

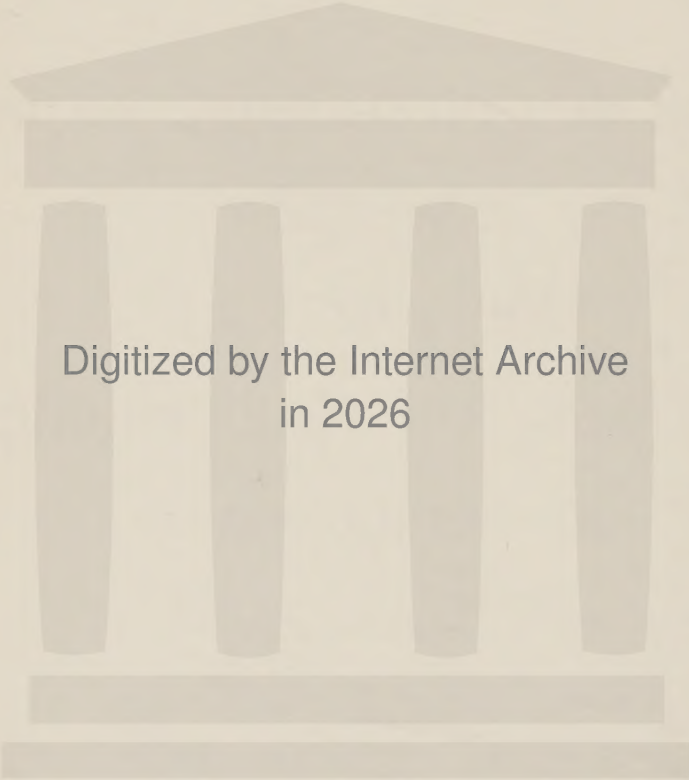
ULRICH SCHMIDT

Über den Wirkungsunterschied
zwischen
Reinalkaloiden
und galenischen Zubereitungen
aus Semen Strychni

FRANKFURT AM MAIN

1963

1964



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546413_0018

Über den Wirkungsunterschied zwischen Reinalkaloiden
und galenischen Zubereitungen aus Semen Strychni

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der
Johann-Wolfgang-Goethe-Universität
Frankfurt am Main

vorgelegt von

Ulrich Schmidt
aus Danzig

Frankfurt am Main 1963

Gedruckt mit Genehmigung
der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der
Johann-Wolfgang-Goethe-Universität
Frankfurt am Main



D e k a n : Prof. Dr. rer. nat. Wolfgang Franz
1. Gutachter: Prof. Dr. med. Walther Laubender
2. Gutachter: Prof. Dr. phil. Carl Rohmann

Tage der mündlichen Prüfung: 24., 27. u. 29.1.1964
Tag der Promotion: 24. Februar 1964

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	5
<u>Chemischer Teil</u>	8
A. Allgemeiner Abschnitt	
Zur Chemie der Galenika aus Samen Strychni	8
1. Droge und Drogeninhaltsstoffe	8
2. Zubereitung und Zusammensetzung der Galenika	13
3. Besondere Eigenschaften der Galenika	18
4. Untersuchungsmethoden	19
B. Spezieller Abschnitt	
Eigene Untersuchungen der in der vorliegenden Arbeit benutzten Galenika Extractum und Tinctura Strychni	24
1. Qualitative Analyse	24
a. Arzneibuchmethoden	24
b. Spektrophotometrie	28
c. Papierchromatographie	34
2. Quantitative Analyse	50
a. Alkaloide	50
b. Chlorogensäure	66
c. Loganinsäure	68
d. Gesamtstickstoff	70
3. Unterschiede in der Zusammensetzung von Extractum und Tinctura Strychni	75
<u>Pharmakologischer Teil</u>	80
A. Allgemeiner Abschnitt	
Zur Pharmakologie der Inhaltsstoffe von Samen Strychni	80
1. Alkaloide	80
a. Strychnin	80
b. Brucin	86
c. Nebenalkaloide	87
2. Begleitstoffe (Nichtalkaloide)	89
a. Chlorogensäure	89
b. Loganin	91
c. Sonstige Begleitstoffe	92
3. Untersuchungsmethoden	93

B. Spezieller Abschnitt

Eigene Untersuchungen von Reinsubstanzen und Galenika aus Samen <i>Strychni</i> an verschiedenen Testobjekten	97
I. Isolierter Kaninchendünndarm	99
1. Methodik	99
a. Präparation und Versuchsanordnung	99
b. Pharmaka-Lösungen und Dosierung	101
c. Pharmakologische Analyse	105
2. Versuchsergebnisse	111
a. Extractum <i>Strychni</i>	111
b. Tinctura <i>Strychni</i>	116
c. Strychnin - Brucin	120
d. Chlorogensäure	122
e. Loganin	128
II. Isolierter Kaninchendickdarm	130
1. Methodik	130
a. Präparation und Versuchsanordnung	130
b. Pharmaka-Lösungen und Dosierung	131
c. Pharmakologische Analyse	132
2. Versuchsergebnisse	143
a. Extractum <i>Strychni</i>	143
b. Tinctura <i>Strychni</i>	153
c. Strychnin - Brucin	161
d. Chlorogensäure	165
e. Loganin	170
III. Ganzfrosch (<i>Rana temporaria</i>)	171
1. Methodik	171
a. Tierhaltung und Versuchsanordnung	171
b. Pharmaka-Lösungen und Dosierung	175
c. Pharmakologische Analyse	176
2. Versuchsergebnisse	179
a. Extractum <i>Strychni</i>	179
b. Tinctura <i>Strychni</i>	188
Diskussion der Versuchsergebnisse	196
Zusammenfassung	201
Literaturverzeichnis	205

Einleitung

Es ist eine in gleichem Maße Mediziner und Pharmazeuten interessierende Frage, ob die galenischen Zubereitungen aus Arzneipflanzen ihren therapeutischen Wert *ausschließlich* der Anwesenheit eines oder mehrerer definierter Wirkstoffe verdanken, oder ob dies nur *weitgehend* zutrifft und darüber hinaus noch andere, mehr oder weniger indifferente Inhaltsstoffe an der Wirkung der Galenika beteiligt sind.

Diese immer wieder diskutierte und nach wie vor aktuelle Frage (1-6) wurde zu Beginn des 19. Jahrhunderts akut, als es Apothekern erstmals gelang, aus Drogen und deren galenischen Präparaten einzelne stark wirksame Stoffe in Form kristallisierter Reinsubstanzen zu isolieren (u.a. 1806 Morphin, 1818 Strychnin, 1819 Brucin, 1820 Chinin, 1831 Atropin), und sich damit für die Ärzte neue Wege in der medikamentösen Behandlung bestimmter Krankheiten eröffneten.

So hat eine mehr als hundert Jahre alte ärztliche Empirie für die praktische Anwendung der galenischen Zubereitungen aus Brechnußsamen (*Semen Strychni*) und für die Anwendung des aus derselben Droge gewonnenen Reinalkaloids Strychnin verschiedene Indikationen aufgestellt. Beispielsweise werden Störungen des Magen-Darm-Trakts (Magenatonie, atonische Obstipationen und Funktionsstörungen nach Darminfektionen) mit *Tinctura* bzw. *Extractum Strychni* behandelt, während die gebräuchlichen Salze des reinen Strychnins vorwiegend zur Therapie von Erkrankungen des Zentralnervensystems (Amblyopie, labyrinthäre Schwerhörigkeit, Folgeerscheinungen nach spinaler Kinderlähmung, *Tabes dorsalis* etc.) dienen. Diese Tatsache weist deutlich auf einen Wirkungsunterschied zwischen den Brechnuß-Galenika und dem Reinalkaloid Strychnin hin. Die experimentelle Pharmakologie hat jedoch diese klinischen Beobachtungen bisher nicht zum Gegenstand ihrer Untersuchungen gemacht.

Schon vor 60 Jahren lenkten THOMS (7) und LIEBREICH (8) die Aufmerksamkeit auf die nicht nur bei der Chinarinde und beim Opium, sondern vor allem auch bei *Folia Belladonnae* und *Semen Strychni* bestehenden Wirkungsunterschiede zwischen galenischen Präparaten und Reinalkaloiden und regten deren Aufklärung an.

Nachdem LAUBENDER und BALLMAIER (9) dieses Phänomen bei der Belladonna-Droge untersucht und tatsächlich den experimentellen Beweis für ein abweichendes pharmakologisches Verhalten von Extractum und Tinctura Belladonnae DAB.6 gegenüber Atropin bzw. l-Hyoscyamin am isolierten Kaninchendünndarm geliefert hatten, schien auch eine entsprechende Prüfung der Nux-vomica-Droge lohnend.

Die Problemstellung der vorliegenden Arbeit lautete also:

Kann ein Wirkungsunterschied zwischen den galenischen Brechnußzubereitungen des Deutschen Arzneibuchs - Extractum und Tinctura Strychni - und den Reinalkaloiden Strychnin und Brucin an brauchbaren pharmakologischen Testobjekten nachgewiesen werden?

Als Testobjekte kamen in Betracht: der Ganzfrosch, dessen typische, sehr gut zu beobachtende Reaktion auf Strychnin bekannt ist; der isolierte Kaninchendickdarm, an dem LANGLEY und MAGNUS (10) zuerst eine spezifische Wirkung des Strychnins feststellten; sowie der isolierte Kaninchendünndarm, der nach INOKUTI (11) ebenfalls auf Strychnin anspricht.

Für die Durchführung einer solchen Prüfung war es notwendig, daß Dosen von Galenikum und Reinalkaloidmischung miteinander verglichen wurden, die hinsichtlich ihres Gehaltes an Strychnin und Brucin übereinstimmten. Das setzte eine möglichst genaue Kenntnis des Gehaltes von Extractum und Tinctura Strychni an diesen Alkaloiden voraus. Demgemäß bestand die erste Aufgabe darin, unter Heranziehung nicht nur der offizinell üblichen älteren Verfahren (Stas-Otto-Gang), sondern auch der modernen Methoden (Papier- und Säulenchromatographie, Spektrophotometrie) die Alkaloidzusammensetzung der Galenika qualitativ und quantitativ exakt zu bestimmen. Erst dann konnte durch Einstellung einer Reinalkaloidlösung auf den gleichen Strychnin- und Brucingehalt der entsprechenden Galenikumlösung die pharmakologische Prüfung mit Aussicht auf Erfolg durchgeführt werden.

Wenn tatsächlich auf diese Weise ein Wirkungsunterschied zwischen Brechnuß-Galenika und Brechnuß-Reinalkaloiden nachweisbar war, schloß sich zwangsläufig die Frage nach dem Grund dafür an. Dieser konnte auf den sogenannten Begleitstoffen der Galenika beruhen,

also beispielsweise auf Chlorogensäure und Loganin bzw. Loganinsäure, die nach Angaben von JAMINET (12) in Samen Strychni neben den Alkaloiden dominieren.

Damit erwuchs für die vorliegende Arbeit die zusätzliche Aufgabe, einerseits beide Galenika auch hinsichtlich ihrer Zusammensetzung an Begleitstoffen einer qualitativen und möglichst auch quantitativen Analyse zu unterwerfen und andererseits außer der Wirkung von Strychnin und Brucin auch die der Chlorogensäure und des Loganins an denselben Testobjekten für sich und im Zusammenspiel mit den Alkaloiden zu untersuchen.

C H E M I S C H E R T E I L

A. Allgemeiner Abschnitt

Zur Chemie der Galenika aus Semen Strychni

Es war zunächst von Interesse, sich einen Überblick zu verschaffen über die in der Literatur erschienenen Angaben über die Inhaltsstoffe der Ausgangsdroge von Extractum und Tinctura Strychni, über die Herstellung, die Zusammensetzung und die besonderen Eigenschaften der galenischen Zubereitungen sowie über die Möglichkeiten ihrer qualitativen und quantitativen Untersuchung. Die folgenden Ausführungen stützen sich auf die wichtigsten dieser Veröffentlichungen.

1. Droge und Drogeninhaltsstoffe

Die offizinellen Strychnos-Galenika - meist Trockenextrakte und Tinkturen - werden nach Vorschrift des Deutschen Arzneibuchs und der sonst hauptsächlich bekannten Pharmakopöen⁺) aus der bereits von VALERIUS CORDUS (1515-1544) beschriebenen Droge Semen Strychni hergestellt. Semen Strychni DAB.6 sind die reifen, getrockneten Samen aus der Beerenfrucht des in Indien, auf Ceylon, auf dem malaiischen Archipel und in Nordaustralien beheimateten, in einigen Gegenden Afrikas auch kultivierten Baumes *Strychnos nux vomica* L., einer Loganiacee, (13 - 16).

Diese Droge verdankt ihre therapeutische Anwendung bekanntlich in erster Linie dem in ihr enthaltenen Hauptalkaloid Strychnin, das im Jahre 1818 von PELLETIER und CAVENTOU (17) isoliert, dessen durch Abbau ermittelte Konstitutionsformel (ROBINSON, 18) aber erst 1951 durch die Röntgen-Strukturanalyse (19,20) und 1954 durch die Totalsynthese von WOODWARD und Mitarbeitern (21,22) bestätigt werden konnte. Die absolute Konfiguration des Strychnin-Moleküls wurde 1956 durch die Kristallstruktur-Analyse aufgeklärt (23).

⁺) Die im Text erwähnten Arzneibücher und deren gebräuchliche Abkürzungen sind im Literaturverzeichnis auf S.205 aufgeführt.

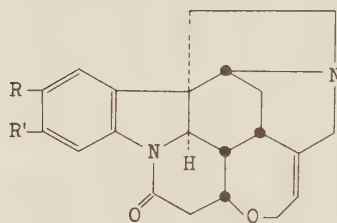
Als weiteres Hauptalkaloid enthalten die Brechnußsamen das 1819 ebenfalls von FELLETTIER und CAVENTOU (24) entdeckte Brucin, d.i. das dem Strychnin ähnlich, aber wesentlich schwächer wirkende Dimethoxy-Derivat des Strychnins. - Siehe hierzu die Formelbilder in Abb. 1.

An Nebenalkaloiden wurden in Samen Strychni erst viel später gefunden: die beiden isomeren Monomethoxy-Derivate des Strychnins, α - bzw. β -Colubrin, und Pseudostrychnin (27) sowie das N-Methyl-Derivat des Hydroxy-Pseudostrychnins, Vomisin (28), und das N-Methyl-Derivat des Pseudobrucins, Novacin (29),⁺. - Siehe hierzu die Formelbilder in Abb. 1. - Allen diesen Alkaloiden dürfte bei der therapeutischen Anwendung der Brechnußsamen kaum eine Bedeutung zukommen, da sie schätzungsweise nur 2-3% des Gesamtalkaloidgehaltes der Droge ausmachen (15).

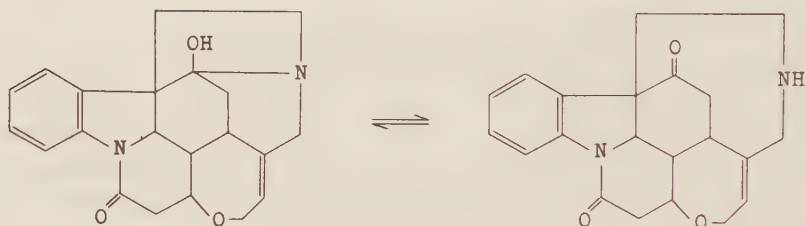
Der Gesamtalkaloidgehalt von Samen Strychni, der sich also hauptsächlich aus Strychnin und Brucin zusammensetzt, schwankt je nach Qualität der handelsüblichen Drogensorten zwischen 2,04 und 3,42% (30). Die jüngsten, sehr eingehenden Untersuchungen von BÜCHI und RELLER (31) ergaben für die von diesen Autoren benutzte Drogensorte einen Gesamtalkaloidgehalt von 2,77%. Das Deutsche Arzneibuch fordert für Samen Strychni einen Alkaloidgehalt von mindestens 2,5%, berechnet auf gleiche Teile Strychnin und Brucin.

Der mengenmäßige Strychnin- bzw. Brucinanteil am Gesamtalkaloidgehalt der Brechnußsamen ist seinerseits auch Schwankungen unterworfen. Die Strychninmenge kann 33-53% betragen, meistens ist der Strychninanteil kleiner als der Brucinanteil (30). BÜCHI und RELLER (31) fanden für das Verhältnis Strychnin : Brucin ein solches von 39,08% : 60,92%, JENTZSCH (32) ermittelte einen Strychninanteil von 43,8%.

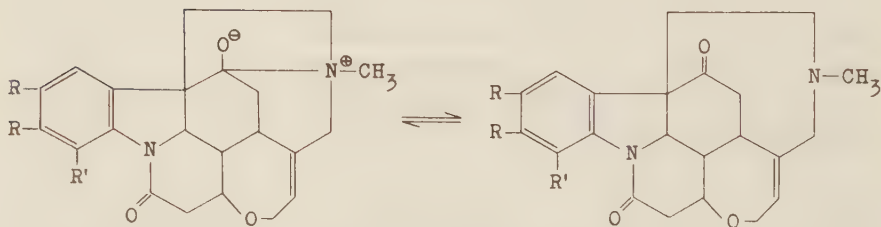
⁺ Das Vorkommen der früher außerdem beschriebenen Nebenalkaloide "Strychnicin" (BOORSMA) und "Struxin" (SCHÄFER) (28) konnte durch neuere Untersuchungen nicht bestätigt werden. Wahrscheinlich handelte es sich bei diesen aufgefundenen Substanzen um Gemische der anderen Nebenalkaloide (27).



Strychnin : $R = R' = H$
 Brucin : $R = R' = CH_3O-$
 α -Colubrin : $R = H, R' = CH_3O-$
 β -Colubrin : $R = CH_3O-, R' = H$



Pseudostrychnin



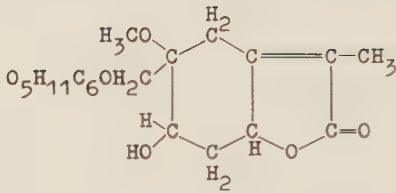
Vomycin : $R = H, R' = HO-$
 Novacin : $R = CH_3O-, R' = H$

Abb. 1. Strukturformeln der in Samen Strychni vorkommenden Alkaloide [nach HENDRICKSON (25) und BOIT (26)].

An nichtalkaloidischen Inhaltsstoffen von Samen Strychni werden vor allem Chlorogensäure und Loganin genannt (13-16, 30). - Siehe hierzu die Formelbilder in Abb. 2. - Chlorogensäure ist ein aus Kaffeesäure und Chinasäure aufgebautes Dipepsid (35, 36). Sie wird pharmakologisch teils als Säure (37, 38), teils als Gerbstoff (39) beurteilt, chemisch-analytisch aber auf Grund der Brenzkatechinstruktur ihrer Kaffeesäurekomponente vorwiegend als phenolische Verbindung klassifiziert (40, 41). Nach GORTER (42), der 1909 erstmals die Chlorogensäure in reiner, kristalliner Form aus Brechnußsamen isolieren und einwandfrei als solche identifizieren konnte, sind die Alkaloide in der Droge nur zum Teil an diese Säure gebunden. Das Vorkommen von Chlorogensäure in Samen Strychni wurde später von TUNMANN (43) und neuerdings von BÄRHEIM SVENDSEN (44) und JAMINET (12) bestätigt. Letzterer ermittelte einen Chlorogensäuregehalt dieser Droge von etwa 0,75%.

Da Chlorogensäure sehr häufig zusammen mit Kaffeesäure in den verschiedensten Pflanzen aufgefunden worden ist (44), ist auch das Vorkommen der letzteren Säure in Samen Strychni nicht ausgeschlossen.

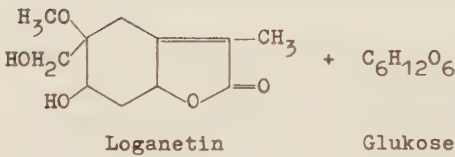
Loganin, 1884 von DUNSTAN und SHORT (45) in Strychnos nux vomica entdeckt, stellt ein Bitterstoffglucosid dar, das mit dem von BRIDEL (46) 1911 in Menyanthes trifoliata L., Gentianaceae, (Fiebertee) gefundenen Meliatin identisch ist (47-49). Es wird bei saurer Hydrolyse oder durch Emulsin in 1 Mol. Loganetin (Aglukon) und 1 Mol. Glucose gespalten; bei alkalischer Hydrolyse geht es dagegen unter Sprengung des Laktonringes in Loganinsäure über (12, 33). Die Struktur des Loganins konnte bisher noch nicht endgültig geklärt werden. MERZ und LEHMANN (34) halten auf Grund der von ihnen sowie der von MERZ und KREBS (48) durchgeführten intensiven Untersuchungen die in Abb. 2 wiedergegebene Formel für die richtigste. MERZ und Mitarbeiter gewannen das von ihnen untersuchte Loganin - genau wie DUNSTAN und SHORT - aus dem Fruchtfleisch der Strychnosbeere (Loganingehalt des getrockneten Fruchtmeses etwa 2%), nicht aber aus den darin eingebetteten Samen. Diese enthalten nach JAMINET (12) kein Loganin, sondern stattdessen etwa 2% Loganinsäure (vgl. Abb. 2). Die den Loganin-Gehalt von Samen Strychni betreffenden Literaturangaben müssen deshalb mit Vorbehalt übernommen werden.



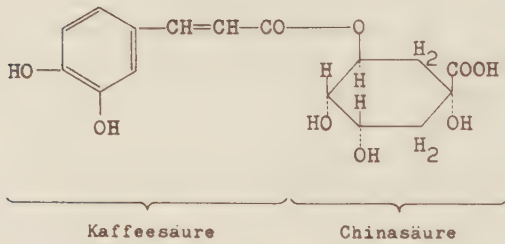
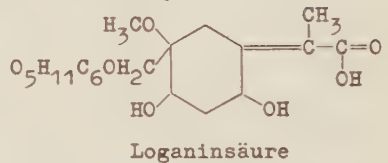
Logenin
[Arbeitsformel nach
MERZ u. LEHMANN (34)]

saure Hydrolyse
Emulsin

alkalische Hydrolyse



Glukose



Chlorogensäure
[nach W. KARRER (33)]

Abb. 2. Strukturformeln der in Samen Strychni hauptsächlich vorkommenden Nichtalkaloide.

Die außerdem bekannten nichtalkaloidischen Brechnuß-Inhaltsstoffe lassen sich in drei Gruppen einordnen: Eiweißstoffe, Fette und Kohlenhydrate. Eine nähere Untersuchung der Zusammensetzung dieser Drogenbestandteile scheint bisher noch nicht erfolgt zu sein. Nach der Übersicht von SCHINDLER (30) wurden in Samen Strychni gefunden: 1. Eiweiß, mit einem Gehalt von 1,822% N, der etwa 11% Protein entspricht; 2. fettes Öl, 2,5-4,2%, von tiefgrüner Farbe und fluoreszierend, hauptsächlich aus Glyceriden der Öl-, Palmitin-, Arachin-, Butter- und Caprinsäure sowie aus beachtlichen Mengen (20%) an Unverseifbarem (u.a. harz- und phytosterinhaltig) bestehend; und 3. Kohlenhydrate, wie Saccharose (1,34%), Mannane und Galaktane.

Nach den neueren Angaben von BÜCHI und RELLER (31) hatten die von ihnen analysierten Brechnußsamen einen Fettgehalt von 5,2%. Der von ANDREWS, HOUGH und JONES (50) untersuchte Polysaccharidanteil von Samen Strychni ist diesen Autoren zufolge aus Galaktose-, Mannose-, Xylose- und Arabinose-Einheiten etwa im Gewichtsverhältnis 5:2:1:1 aufgebaut. JAMINET (51) identifizierte die von ihm aus Samen Strychni isolierten freien Monosaccharide als Glucose und Lävulose. Außerdem hat JAMINET an gleicher Stelle auf einige freie und gebundene Aminosäuren hingewiesen, die in Samen anderer Strychnosarten vorkommen, so daß auch in den Samen von Strychnos nuxvomica mit der Anwesenheit solcher Stoffe gerechnet werden kann. In den Ausführungen von v. CZETSCH-LINDENWALD (52) ist ausnahmsweise noch Cholin als Inhaltsstoff der Brechnußsamen angegeben.

2. Zubereitung und Zusammensetzung der Galenika

Wenn SEEL (4) im Hinblick auf die Erntezeit von Folia Digitalis sehr zu Recht den Ausspruch prägte: "So viele Arzneibücher, so viele Vorschriften!", dann gilt das mit gleichem Recht auch für die Zubereitung der offizinellen Galenika aus Samen Strychni: Alle bekannteren Arzneibücher, in denen die Artikel "Extractum Strychni" bzw. "Tinctura Strychni" aufgeführt sind, differieren in den betreffenden Herstellungsvorschriften mehr oder weniger stark.

Die stärksten Unterschiede ergeben sich bei der in fast allen Fällen obligatorischen Entfernung des Samenfetts (31). Einige Arzneibücher (ÖAB.9 bei der Tinktur; Ph. Helv. V beim Extrakt) lassen das

Drogenpulver vor der allgemein angewandten Äthanolextraktion entfetten, die anderen nicht. Letztere Pharmakopöen, nach denen also fetthaltige Äthanolauzüge anfallen, lassen diese auf verschiedene Art nachträglich vom Fett befreien. Dies geschieht entweder mit geschmolzenem Paraffin (B.P. 1958, Ph. Dan. 1948, Ph. Internat. I), Petroläther (U.S.P. XI), Hexan (N.F. XI) oder Äther (Cod. Gall. VI; ÖAB.9 beim Extrakt).

Ein weiterer Unterschied besteht in der Wahl des Menstruums, d.h. des zur Extraktion der Wirkstoffe aus den entfetteten oder nicht-entfetteten Samen bestimmten Lösungsmittels. In den meisten Fällen wird reines 70 Vol.%iges Äthanol angewandt, die Ph. Dan. und auch die U.S.P. XII schreiben aber noch einen Zusatz von Salzsäure vor.

Ferner zeigen sich auch im allgemeinen Herstellungsprinzip der offizinellen Brechnuß-Galenika wesentliche Unterschiede. So kommen erstens verschiedene Extraktionsverfahren (Dimazeration, Perkolation) zur Anwendung, und zweitens wird die offizinelle Brechnuß-Tinktur einiger Pharmakopöen nicht gesondert aus der Droge angefertigt, sondern einfach durch Auflösen des offizinellen Trockenextraktes (Ph. Dan. 1948, Ph. Helv. V) bzw. durch Verdünnen des Fluidextraktes (B.P. 1958) hergestellt.

Schließlich verwenden die einzelnen Arzneibücher auch verschiedene Verschnittsubstanzen zum Einstellen der Trockenextrakte (Lactose, Saccharose, Stärke etc.) und schreiben teilweise einen unterschiedlichen Wirkstoffgehalt der Galenika vor. Während die meisten Pharmakopöen - unter der Voraussetzung, daß die Alkaloide Strychnin und Brucin in den Galenika etwa zu gleichen Teilen enthalten sind - für den Trockenextrakt 16% Gesamtalkaloide verlangen, weichen hiervon die Ph. Helv. V und die B.P. 1953 ab, die die entsprechenden Zubereitungen durch stärkere Verdünnung auf nur 10% Gesamtalkaloide bzw. 5% Strychnin einstellen lassen. Der Alkaloidgehalt der offizinellen Brechnuß-Tinkturen beträgt dagegen einheitlich 0,25 G/V% Gesamtalkaloide bzw. 0,125 G/V% Strychnin.

Als einziges der genannten Arzneibücher führt die "British Pharmacopoeia" einen Brechnuß-Fluidextrakt, "Extractum Nucis Vomicae Liquidum", an, der einen Alkaloidgehalt von 1,5 G/V% Strychnin und einen Äthanolgehalt von 36-42 Vol.% besitzt. Auch die "Nux Vomica Tincture" der B.P. 1958 liegt mit ihrem vorgeschriebenen Äthanolgehalt von 43-46 Vol.% deutlich unter dem Äthanolgehalt

der anderen offizinellen Strychnos-Tinkturen (einheitlich ca. 70%).

Das Deutsche Arzneibuch schreibt die Bereitung von Extractum Strychni wie folgt vor: 1. Entfettung der Droge mit Petroleumbenzin nach dem Perkulationsverfahren. 2. Extraktion der entfetteten Droge mit 70 Vol.%igem Äthanol nach dem Dimazerationsverfahren. 3. Rektifizierung der vereinigten Extraktbrühen durch Filtration nach mehrtägigem Stehen bei gewöhnlicher Temperatur. 4. Eindampfung der rektifizierten Extraktflüssigkeit im luftverdünnten Raum zu einem Trockenextrakt. 5. Ermittlung des Gesamtalkaloidgehaltes des Trockenextraktes und - wenn dieser zu hoch liegt - Einstellung des Extraktes auf 16% Gesamtalkaloide durch Verschneiden mit Lactose.

Extractum Strychni DAB.6 unterscheidet sich also beispielsweise vom Brechnuß-Extrakt der Ph. Helv. V dadurch, daß das Schweizer Arzneibuch für die Wirkstoffextraktion das Perkulationsverfahren vorschreibt und die Extraktbrühe zur Rektifizierung in "einem kühlen Raum" absetzen läßt, wodurch einerseits höhere Gesamtextraktausbeuten erzielt und andererseits mehr sogenannte "Ballaststoffe" aus dem Auszugsgut entfernt werden (4). Außerdem läßt die Ph. Helv. V den Trockenextrakt mit Saccharose auf nur 10% Gesamtalkaloide einstellen.

Die entsprechenden Vorschriften des ÖAB.9 weichen von denjenigen des DAB.6 noch am wenigsten ab. Das Österreichische Arzneibuch, das offensichtlich die Verbesserungsvorschläge von BÜCHI und RELLER (31) zur Herstellung von Extractum Strychni Ph. Helv. V weitgehend berücksichtigt hat und sich demzufolge an den Cod. Gall. VI anlehnt, läßt die nichtentfettete Droge mit 70 Vol.%igem Äthanol nach dem Perkulationsverfahren extrahieren, die Extraktbrühe mit Äther entfetten und den eingeeengten Extrakt nach Bestimmung des Alkaloidgehaltes und Zusatz des (wahlfreien) Verdünnungsmittels zur Trockne bringen.

Hinsichtlich der Bereitung von Tinctura Strychni nimmt das Deutsche Arzneibuch unter allen oben zitierten Pharmakopöen insofern eine Sonderstellung ein, als die DAB-Tinktur praktisch die einzige offizinelle Brechnuß-Tinktur ist, die erstens nur durch einfache Mazeration der nichtentfetteten Samen hergestellt wird, und die zweitens den mitextrahierten Fettanteil laut Vorschrift behält. Der Gesamtalkaloidgehalt der DAB-Tinktur soll, wie bei den anderen offizi-

nellen Strychnos-Tinkturen, mindestens 0,25% betragen. Mehreren Untersuchungen zufolge (53) kann jedoch dieser Alkaloidgehalt bei Anwendung der Herstellungsvorschrift des DAB.6 kaum erreicht werden.

Zum Unterschied zur DAB-Tinktur wird z.B. die Tinctura Strychni des ÖAB.9 durch Perkolation der zuvor mit einem geeigneten (wahlfreien) Lösungsmittel entfetteten Droge gewonnen und die Brechnuß-Tinktur der Ph. Helv. V, wie bereits erwähnt, aus dem offizinellen Trockenextrakt bereitet.

Aus dem Gesagten geht klar hervor, daß die Brechnuß-Galenika der verschiedenen Arzneibücher auch in bezug auf ihre Zusammensetzung mehr oder weniger starke Abweichungen untereinander aufweisen müssen; denn es ist bekannt, daß z.B. die Extraktausbeuten bei Anwendung der Perkolation andere sind als bei Anwendung der Mazeration oder Dimazeration (54, 55). So schreibt WOJAHN (56): "Die Tinkturen des Deutschen und des Schweizer Arzneibuchs sind ganz unterschiedlich zusammengesetzt." und belegt dies für den Fall der Brechnuß-Tinkturen durch Gegenüberstellung ihres Gesamtgehaltes an nichtflüchtigen Extraktivstoffen (Trockenrückstand): Tinct. Strychni nach dem DAB.6 = 1,1 - 1,6%, nach der Ph. Helv. V (aus dem Trockenextrakt) = 2,4%.

Es war für die vorliegende Arbeit im Prinzip gleichgültig, nach welcher Arzneibuchvorschrift die zu verwendenden Brechnuß-Galenika (Extrakt und Tinktur) zubereitet wurden; es mußte nur zur Bedingung gemacht werden, daß jedes Galenikum für sich einer einheitlichen Herstellungscharge entstammte. Da aber wohl die beiden Galenika des Deutschen Arzneibuchs diejenigen Brechnuß-Zubereitungen sind, die innerhalb derselben Pharmakopöe hinsichtlich ihrer Herstellung die größten Abweichungen voneinander aufweisen und damit auch die relativ größten Unterschiede in bezug auf ihre Zusammensetzung erwarten lassen⁺), war es besonders anreizend, gerade diese Präparate zum Gegenstand der geplanten Untersuchungen zu machen. Denn auf Grund der wahrscheinlich unterschiedlichen Zusammensetzung schien

⁺ Die Unterschiede zwischen Extractum und Tinctura Strychni nach der Ph. Helv. V dürften z.B. nur in der Darreichungsform bestehen; denn die Zusammensetzung dieser Galenika ist - in Relation zum Alkaloidgehalt - praktisch dieselbe, weil ja die Tinktur nur durch Auflösen des Extraktes hergestellt wird (s. o.).

auch ein verschiedenes pharmakologisches Verhalten des DAB-Extraktes gegenüber der DAB-Tinktur denkbar.

Die Zusammensetzung der Galenika resultiert bekanntlich aus der Art des Herstellungsverfahrens, aus der Drogenqualität und aus dem Lösungsvermögen des gewählten Menstruums gegenüber den Drogeninhaltsstoffen. Daraus ergibt sich, daß bei Anwendung der DAB.6-Vorschrift alle diejenigen Stoffe in die Brechnuß-Galenika gelangen, die sich im Falle des Extrakts durch Dimazeration des entfetteten und im Falle der Tinktur durch einfache Mazeration des nichtentfetteten Drogenpulvers mit 70 Vol.-%-igem Äthanol extrahieren lassen. Hieraus folgt ohne weiteres, daß außer den Hauptalkaloiden Strychnin und Brucin auch Spuren der Nebenalkaloide, aber zugleich noch Chlorigensäure und Loganin bzw. Loganinsäure (beide leicht in Wasser und verdünntem Äthanol löslich) sowie Kohlenhydrate, Aminosäuren und geringe Anteile von Fett- (nur bei der Tinktur!, s. o.) und Eiweißstoffen in die Galenika übergehen können.

Der Alkaloidgehalt der Galenika ist, wie in Samen Strychni, aus verschieden großen Anteilen von Strychnin und Brucin zusammengesetzt. Die meisten Autoren vertreten die Auffassung, daß diese Anteile im allgemeinen den in der Ausgangsdroge vorliegenden Verhältnissen entsprechen. Einige Autoren (57, 58) fanden jedoch experimentell, daß Brechnuß-Galenika, die nach verschiedenen Verfahren aus derselben Drogenqualität hergestellt worden waren, eine unterschiedliche Alkaloidzusammensetzung aufwiesen. Nach diesen Untersuchungen betrug der mittlere Strychnin-Anteil in Extractum Strychni 47% (57) bzw. 40,6% (58) und in Tinctura Strychni 53% (57) bzw. 49,3% (58). Hieraus ergibt sich übereinstimmend ein auffallendes Charakteristikum: In beiden Fällen ist der Strychnin-Anteil am Gesamtalkaloidgehalt in der Tinktur größer als im Extrakt.

Über die nichtalkaloidischen Bestandteile der Brechnuß-Galenika liegen bisher weder in qualitativer noch in quantitativer Hinsicht genaue Untersuchungen vor. Die wenigen Angaben, die sich hierüber in der Literatur finden, beschränken sich vorwiegend auf allgemeine Beobachtungen, die gelegentlich der Untersuchung der Hauptalkaloide gemacht wurden. So haben u.a. HÖRHAMMER und LEUE (59), KEDVESSY und RÁCZ (60) sowie SCHINDLER (61) bei papierchromatographischen

Auftrennungen von Tinctura bzw. Extractum Strychni übereinstimmend festgestellt, daß die Brechnuß-Galenika mehrere Stoffe enthalten, die im filtrierten UV-Licht fluoreszieren. Als einziger dieser Stoffe wurde bisher nur Chlorogensäure identifiziert (59, 60). Wie in Semen Strychni, konnte JAMINET (12) papierchromatographisch auch in Tinctura Strychni kein Loganin, sondern stattdessen Loganinsäure nachweisen (vgl. S. 11).

3. Besondere Eigenschaften der Galenika

Die Qualität der Galenika ist in entscheidendem Maße von der Beständigkeit ihres therapeutischen Wirkungsgrades und damit von der Stabilität ihrer wirksamen Bestandteile abhängig. Gerade in bezug auf dieses Kriterium, das von den verschiedensten Faktoren abhängig ist (62, 63), muß den galenischen Zubereitungen aus Semen Strychni besondere Beachtung geschenkt werden; denn in mehreren Veröffentlichungen ist die Haltbarkeit vor allem der Tinctura Strychni DAB.6 bemängelt worden. So fanden ROJÄHN und HERZOG (64), daß die von ihnen untersuchte DAB-Tinktur um 38 % ihres Gesamtalkaloidgehaltes abgenommen hatte, nachdem sie ein Jahr lang dem Sonnenlicht ausgesetzt worden war. Sie konnten diesen chemisch-analytisch ermittelten Befund noch durch das Tierexperiment erhärten, indem sie eine dem Alkaloidschwund entsprechende Wirkungsminderung am Ganzfrosch feststellten. BIEL (65) konstatierte nach 3 1/4 jähriger üblicher Lagerung einer Tinctura Strychni DAB.6 eine Abnahme ihres Alkaloidgehaltes um 45 %, und nach den Angaben von BARI (66) sollen Strychnos-Tinkturen, die auf verschiedene Weise zubereitet wurden, nach Jahresfrist sogar 49 - 60 % ihres Alkaloidgehaltes verloren haben. Aus elf Arbeiten anläßlich eines Preisausschreibens der Meurerstiftung, "Über Herstellung und Aufbewahrung von Strychnos-Tinktur und Strychnos-Extrakt", (67) geht ebenfalls hervor, daß in verschiedenen hergestellten Tinkturen innerhalb eines halben Jahres ein Alkaloidrückgang zwischen 5 und 33 % stattfindet, während ein solcher in Trockenextrakten nicht als bewiesen gelten kann.

Auf Grund dieser Veröffentlichungen schien es unmöglich, die für die vorliegende Arbeit notwendige Grundbedingung erfüllen zu können, bei allen pharmakologischen Versuchen stets das gleiche, unveränderte Analysenmaterial anzuwenden. Zumindest aber erwuchs daraus die

Aufgabe, beide Galenika so geschützt wie möglich aufzubewahren und vor allem den Alkaloidgehalt der Tinctura Strychni ständig zu überprüfen. Das Ergebnis dieser Untersuchungen sei hier vorweggenommen: Bei dauernder Aufbewahrung beider Galenika in fest verschlossenen Schraubgefäßen aus braunem Glas (MERCK'sche Reagensflaschen) an einem dunklen Ort bei Zimmertemperatur (Extractum Strychni zusätzlich im Exsikkator) zeigte nach zwei Jahren der Extrakt keine meßbare Alkaloidabnahme und die Tinktur nur einen Schwund von höchstens 3% ihres Gesamtalkaloidgehaltes. Dieser Befund wird zudem durch die Angaben der "Pharmacopoea Internationalis"[†]) gestützt, wonach die offizinelle Tinctura Strychni n i c h t zu den extra verzeichneten Tinkturen zählt, "deren Wirkstoffe sich im Laufe der Zeit ändern" und die deshalb "alljährlich erneuert werden müssen" (Bd. 2, deutsche Ausgabe 1957, S. 232). Es war daher gerechtfertigt, daß beide Galenika - trotz der oben genannten Veröffentlichungen - im gesamten Zeitraum der pharmakologischen Versuche (ca. 1 1/2 Jahre) aus jeweils derselben Charge zur Anwendung kamen.

Die erwiesene Tatsache, daß die Tinctura Strychni DAB.6 auf jeden Fall bei unsachgemäßer Lagerung eine auffallend große Instabilität ihres Alkaloidgehaltes zeigt, könnte möglicherweise mit dem Fettgehalt dieser Tinktur in ursächlichem Zusammenhang stehen (5). Diese Frage bedarf jedoch noch einer besonderen Untersuchung.

4. Untersuchungsmethoden

Das Deutsche Arzneibuch schreibt für die qualitative Prüfung der offizinellen galenischen Zubereitungen aus Samen Strychni nur wenige Kriterien vor: bei Extractum und Tinctura Strychni sind es Sinnesprüfungen (Aussehen, Geschmack) und der wenig spezifische Identitätsnachweis der zuvor isolierten Strychnosalkaloide durch Bromwasser und Schwefelsäure, beim Extrakt ist es zusätzlich die Feststellung seiner Löslichkeit in Wasser und bei der Tinktur zusätzlich die Bestimmung der Alkoholzahl sowie die Reinheitsprüfung auf Methanol und Aceton.

[†]) Die "Pharmacopoea Internationalis", herausgegeben von der Welt-Gesundheits-Organisation (WHO) in Genf, wurde von Israel als erstem Staat als amtliches Arzneibuch eingeführt (68).

Daß diese Kriterien aber vollkommen unzureichend sind, um auch nur annähernd genau beurteilen zu können, ob es sich bei den fraglichen Drogenpräparaten tatsächlich um vorschriftsmäßig hergestellte Galenika aus Semen Strychni handelt, ist oft betont worden. Aus diesem Grund wurde in letzter Zeit eine Reihe von Anregungen und Vorschlägen zur Verbesserung der qualitativen Untersuchungsmöglichkeiten für Galenika im allgemeinen (69-75) und für die Brechnuß-Galenika im besonderen (30, 59-61, 76) veröffentlicht.

Eine spezifischere qualitative Analyse der Galenika, gerade auch in bezug auf charakteristische Begleitstoffe, ist vor allem durch die Papierchromatographie möglich geworden, die in dieser Funktion als wissenschaftlich betriebene Weiterentwicklung der rein empirisch gehandhabten Kapillaranalyse des Homöopathischen Arzneibuchs (HAB.2) betrachtet werden kann. Zur Identifizierung der Alkaloide in Extractum bzw. Tinctura Strychni wurden bereits mehrere papierchromatographische Methoden beschrieben (59-61, 76-80). Danach läßt sich die Trennung und der spezifische Nachweis der Hauptalkaloide Strychnin und Brucin ohne Schwierigkeit durchführen. Eine günstige Abtrennung der Nebenalkaloide ist auf diesem Wege noch nicht gelungen (81)⁺. Untersuchungen zur speziellen Ermittlung der nicht-alkaloidischen Begleitstoffe in galenischen Brechnußpräparaten, insbesondere von Chlorogensäure und Loganin bzw. Loganinsäure, hat bisher nur JAMINET (12) - ebenfalls auf papierchromatographischem Wege - durchgeführt. Eine weitere Möglichkeit zur genaueren qualitativen Bestimmung der galenischen Zubereitungen ist durch die Spektrophotometrie gegeben (72).

Beide Verfahren, Papierchromatographie und Spektrophotometrie, wurden in der vorliegenden Arbeit bei der Untersuchung von Extractum und Tinctura Strychni DAB.6 berücksichtigt.

Für die q u a n t i t a t i v e Ermittlung des Alkaloidgehaltes der Brechnuß-Galenika schreibt das DAB.6 das bekannte Ausschüttelungsverfahren nach Stas-Otto und die anschließende alkalimetrische Bestimmung der isolierten Alkaloidbasen in folgender Weise vor:

⁺) Hier könnte vielleicht in Zukunft die der Papierchromatographie in vielen Fällen überlegene Dünnschichtchromatographie mit Erfolg eingesetzt werden, die sich bereits bei der Trennung von Strychnin und Brucin gut bewährt hat (82).

Die Alkaloide werden aus der schwefelsauren Lösung der Galenika mit Soda-Natronlauge freigemacht und mit Äther-Chloroform extrahiert; nach Zusatz von Tragant wird ein aliquoter Teil der geklärten Alkaloidlösung von der wässrigen Phase getrennt und eingedampft; der Rückstand wird in überschüssiger 0,1 n Salzsäure gelöst und der Überschuß an Salzsäure mit 0,1 n Kalilauge zurücktitriert. Der Berechnung des so erfaßten Gesamtalkaloidgehaltes ist das mittlere Molekulargewicht von Brucin und Strychnin zugrunde gelegt.

Diese quantitative Bestimmungsmethode des DAB.6 hat sich, was ihre rein analytische Genauigkeit angeht, bis heute sehr gut bewährt und ist noch immer in vielen Fällen die Methode der Wahl (z.B. 83). Wenn an diesem Verfahren trotzdem Kritik geübt wird, so war diese für die vorliegende Arbeit vor allem in zwei Punkten von Bedeutung: 1. hinsichtlich der Berechnungsgrundlage und 2. hinsichtlich der pharmakologischen Gegebenheiten.

Ad 1): Die Berechnung des Gesamtalkaloidgehaltes nach dem DAB.6, der das mittlere Molekulargewicht von Strychninbase und wasserfreier Brucinbase zugrunde gelegt wird, erfolgt unter der Voraussetzung, daß die Alkaloide Strychnin und Brucin zu genau je 50% am Gesamtalkaloidgehalt beteiligt sind. Dies trifft aber, wie schon MEYER (53) ausführlich darlegte, nicht zu; denn in den meisten Fällen ist das Brucin mehr oder weniger stark im Übergewicht (vgl. S. 9). Aus diesem Grund müßte eigentlich das zur Berechnung des Gesamtalkaloidgehaltes dienende mittlere Molekulargewicht von Strychnin und Brucin entsprechend variiert werden. Da jedoch die Zusammensetzung des Alkaloidgehaltes stets Schwankungen unterworfen ist, läßt sich auch durch eine derart fixierte Berechnungsgrundlage der wahre Gesamtalkaloidgehalt nicht ermitteln. Dies ist nur mit Hilfe einer getrennten Bestimmung von Strychnin und Brucin möglich.

Ad 2): Da die Hauptwirkstoffe von Extractum und Tinctura Strychni, Strychnin und Brucin, qualitativ wohl ähnlich, aber quantitativ ganz verschieden stark wirken (Strychnin ist bis 100mal stärker wirksam als Brucin), geht aus Punkt 1) hervor, daß jede nur den Gesamtalkaloidgehalt erfassende chemische Wertbestimmung (also auch die des DAB.6) niemals eine genaue Aussage über den auf die Alkaloide bezogenen Wirkungsgrad dieser Präparate machen kann.

Besonders wegen dieser Tatsache war für die vorliegende Arbeit die getrennte Bestimmung des Strychnin- und Brucingehaltes der Galenika von grundlegender Wichtigkeit; denn erst wenn diese Voraussetzung erfüllt war, konnten die zum pharmakologischen Vergleich notwendigen Alkaloid-Modellösungen hergestellt werden, die dieselbe Strychnin-Brucin-Zusammensetzung haben mußten wie Extractum bzw. Tinctura Strychni.

Für die getrennte Bestimmung von Strychnin und Brucin bzw. für die alleinige Bestimmung des vorwiegend wirksamen Strychnins in offizinellen Brechnußpräparaten ist eine Vielzahl von Vorschriften ausgearbeitet worden, die bereits in einigen Arzneibüchern ihren Niederschlag gefunden haben (z.B. B.P. und Ph. Internat. ; sowie Ph. Dan. für Semen Strychni). Eine Zusammenstellung der bis 1955 erschienenen wichtigsten Veröffentlichungen hierüber bringen KARMAZIN und BÜSWART (84) sowie JENTZSCH (32); später publizierte Originalarbeiten, die das gleiche Problem behandeln, sind im vorliegenden Literaturverzeichnis aufgeführt (57, 58, 77-99).

Alle bisher angewandten Methoden zur getrennten quantitativen Bestimmung von Strychnin und Brucin in galenischen Zubereitungen aus Semen Strychni lassen sich prinzipiell in drei Arbeitsvorgänge gliedern: 1. die Isolierung der Alkaloide aus dem Galenikum, 2. die Trennung der Alkaloide voneinander und 3. die quantitative Auswertung der zur Bestimmung geeigneten Form der einzelnen Alkaloide.

Zur Isolierung von Strychnin und Brucin aus den Brechnuß-Galenika haben sich neuerdings neben dem Stas-Otto-Gang hauptsächlich folgende Methoden als brauchbar erwiesen: die Fällung der Alkaloide als Reineckate (85), die Papierchromatographie (77-80), die Säulenchromatographie (Verteilungs- und Adsorptionsmethode) (58, 87-89), der Ionenaustausch (90-92) und die Elektrophorese (57, 94).

Die für fast alle Verfahren zur gesonderten quantitativen Bestimmung von Strychnin und Brucin notwendige Trennung der Alkaloide nach der Gesamtextraktion erfolgt meistens durch Variation der Versuchsbedingungen mit den gleichen Methoden, mit denen die Alkaloide isoliert wurden, vor allem durch die Säulenchromatographie (58, 86, 95). Bei einigen dieser Methoden, insbesondere bei den papierchromatographischen Verfahren, werden Strychnin und Brucin gleichzeitig aus dem Galenikum isoliert und voneinander getrennt. - Eine weitere

Möglichkeit zur Trennung von Strychnin und Brucin ist durch die Gegenstromverteilung nach Craig gegeben (96, 97) .

Die quantitative Ermittlung der getrennten Alkaloide wird in den meisten Fällen nach den bekannten Methoden der Volumetrie durchgeführt, sie kann aber auch gravimetrisch (Beispiele s.u. 84), kolorimetrisch (84, 98, 99), polarographisch (57, 93), radiometrisch (80) oder spektrophotometrisch (32, 87 - 90, 94) erfolgen. Dabei haben die spektrophotometrischen Verfahren den Vorteil, daß sie keine vorherige Trennung der Alkaloide erfordern, weil es mit ihrer Hilfe möglich ist, den Strychnin- und Brucingehalt im Gesamtalkaloidextrakt nebeneinander zu erfassen.

Neben diesen zahlreichen Methoden zur getrennten quantitativen Bestimmung von Strychnin und Brucin in galenischen Brechnußzubereitungen erscheinen auch laufend neue Vorschläge zur Bestimmung des Gesamtalkaloidgehaltes von Extractum bzw. Tinctura Strychni (u.a. 100 u. 101). Sie verfolgen hauptsächlich den Zweck, die von allen Arzneibüchern bisher beibehaltenen klassischen Methoden hinsichtlich ihres Zeit- und Arbeitsaufwandes zu unterbieten.

Über die quantitative Bestimmung der nichtalkaloidischen Begleitstoffe der Strychnos-Galenika finden sich in der Literatur nur sehr wenige Angaben. Sie beschränken sich auf die papierchromatographischen Untersuchungen von JAMINET (12) hinsichtlich des Gehaltes von Samen bzw. Tinctura Strychni an Chlorogensäure und Loganinsäure sowie auf die Untersuchung von BÜCHI und RELLER (31) hinsichtlich des Fettgehaltes von Extractum Strychni. Aus diesem Grund war es bei den eigenen Untersuchungen der zur vorliegenden Arbeit verwendeten Brechnußpräparate erforderlich, teilweise neue Möglichkeiten zur quantitativen Bestimmung ihrer Zusammensetzung zu erproben.

B. Spezieller Abschnitt

Eigene Untersuchungen der in der vorliegenden Arbeit benutzten Galenika Extractum und Tinctura Strychni

Die Analyse von Extractum und Tinctura Strychni sollte vor allem die Möglichkeit schaffen, die Galenika in bezug auf ihre Hauptwirkstoffe, Strychnin und Brucin, so zu dosieren, daß ein pharmakologischer Vergleich mit wässrigen Lösungen der Reinalkaloidsalze durchführbar war. Darüber hinaus sollte sie aber auch zur Interpretation eventueller Wirkungsunterschiede beitragen.

Beide galenischen Zubereitungen wurden deshalb sowohl auf Alkaloide als auch auf nichtalkaloidische Inhaltsstoffe qualitativ und quantitativ untersucht. Hierbei kamen aus der umfangreichen Literatur, die im vorherigen Abschnitt zusammengestellt ist, von bewährten konventionellen und erfolgreich eingeführten modernen Verfahren nur solche zur Anwendung, die sich für die gestellte Aufgabe als besonders geeignet erwiesen.

Da die Zusammensetzung der Galenika im allgemeinen bei jeder Bereitung wegen der wechselnden Drogenqualität unvermeidlichen Schwankungen unterworfen ist, wurden für die vorliegende Arbeit, die eine größtmögliche Konstanz der Präparate voraussetzte, hinreichend große Materialmengen aus gleichen Chargen von der Chemischen Fabrik Haidle & Maier, Stuttgart, bereitgestellt, und zwar Extractum Strychni DAB.6 aus der Charge Nr. 4631 und Tinctura Strychni DAB.6 aus der Charge Nr. 4618. Beide Chargen wurden - ebenfalls voraussetzungsgemäß - aus einheitlichem Drogenmaterial gleicher Provenienz zubereitet.

1. Qualitative Analyse

a. Arzneibuchmethoden

Die Qualität der Galenika hängt nicht nur von der Beschaffenheit der Droge ab, sondern, wie bereits weiter vorne dargelegt, in entscheidendem Maße auch von dem Verfahren ihrer Zubereitung.

Einer qualitativen Prüfung der Galenika nach Art und Umfang gebräuchlicher Arzneibuchmethoden konnten deshalb nur die offiziellen Vorschriften zugrunde gelegt werden, die auf die Herstellungsweise der bezogenen Präparate abgestimmt sind. Da diese Präparate nach den Angaben des Deutschen Arzneibuchs angefertigt worden waren, waren für sie also in erster Linie die Prüfungsmethoden des DAB.6 maßgebend. Zusätzlich wurden jedoch auch die Kriterien des Österreichischen Arzneibuchs für ihre Untersuchung mit herangezogen, da einerseits die Herstellungsvorschriften dieser jüngsten europäischen Pharmakopöe bezüglich der Galenika aus Semen Strychni den DAB-Vorschriften noch am ähnlichsten sind (vgl. S. 15), andererseits aber das ÖAB.9 gegenüber dem DAB.6, der ältesten noch gültigen europäischen Pharmakopöe, einige nützliche Ergänzungen für die Analyse der Brechnußpräparate, so z.B. den speziellen Nachweis des Loganins, enthält.

Die in genauer Anlehnung an die Angaben beider Arzneibücher erfolgte Analyse von Extractum und Tinctura Strychni DAB.6 hatte das aus Tab.1 ersichtliche Ergebnis.

Aussehen, Geschmack, Löslichkeit, Mischbarkeit, Dichte, Alkoholzahl und Alkoholgehalt sowie die Reinheit der betreffenden untersuchten Galenika erfüllten fast vollständig die Forderungen des DAB.6 bzw. des ÖAB.9.

Die zur Identitätsprüfung auf Strychnosalkaloide und Loganin durchgeführten Nachweisreaktionen verliefen bei beiden Präparaten übereinstimmend im einzelnen wie folgt:

1. Nachweis der Strychnosalkaloide.

a. Die nach vorgeschriebener Gehaltsbestimmung anfallende titrierte Flüssigkeit färbte sich bei Zugabe von verdünntem Bromwasser vorübergehend rot und trübte sich bei weiterem Reagenszusatz milchig-gelb.

b. Das unter a) erhaltene Gemisch zeigte bei Unterschichtung mit Schwefelsäure an der Berührungsfläche eine rötlichviolette Färbung, die sich beim Stehen der ganzen Lösung mitteilte.

c. Nach entsprechender Vorbehandlung gab das Filtrat der salzsauren Lösungen auf Zusatz von Mayers Reagens sofort einen deutlichen Niederschlag.

d. Die eingedampfte Chloroformausschüttelung eines mit Ammoniak alkalisierten Teils des für c) verwendeten Filtrats färbte sich bei Zugabe von Vanadin-Schwefelsäure (Mandelins Reagens) erst blauviolett, dann gelbrot.

Tabelle 1

Ergebnis der qualitativen Analyse der Galenika
nach Angaben des DAB.6 und des ÖAB.9

Kriterium	Extr. Strychni	Tinct. Strychni	Arznei- buch
Aussehen	Grünlichgelbes, lockeres Pulver (DAB: braun; ÖAB: hellbraunes, lockeres Pulver)	Dunkelgelbe Flüssigkeit (DAB: gelb; ÖAB: gelbe Flüssigkeit)	DAB.6 ÖAB.9
Geschmack	sehr bitter		DAB.6 ÖAB.9
Löslichkeit, Mischbarkeit	In Wasser trüb löslich	-	DAB.6 ÖAB.9
	In verd. Alkohol fast vollständig, in Alkohol nur trüb löslich	Mit verd. Alkohol oder der gl. Menge Alkohol klar, mit Wasser opali- sierend trüb mischbar	ÖAB.9
Identitäts- nachweis der Strychnos- alkaloide	a. Farb- u. Fällungsreaktion mit Bromwasser: positiv		DAB.6
	b. Farbreaktion mit Schwefelsäure: positiv		
	c. Fällungsreaktion mit Mayers Reagens: positiv		ÖAB.9
	d. Farbreaktion mit Mandelins Reagens: positiv		
Identitäts- nachweis des Loganins	Farbreaktion mit Schwefelsäure: positiv		ÖAB.9
Dichte _{20°}	-	0,901 (0,890 - 0,900)	ÖAB.9
Alkoholgehalt	-	64,9 Vol.% (mindestens 65,0 Vol.%)	ÖAB.9
Alkoholzahl	-	7,7 ± 57,2 Gew.% (nicht unter 7,5)	DAB.6
Trocken- rückstand	-	1,36 % (-)	(ÖAB.9)
Reinheit	Trocknungsverlust: 4,8 % (höchstens 5,0 %) Asche: 5,1 % (höchstens 5,0 %)	Methanol: negativ ⁺ Aceton: negativ ⁺ Isopropanol: negativ	⁺) DAB ÖAB.9
	Schwermetalle: in unzulässiger Menge nicht nachweisbar		

Anmerkung: In Klammern () gesetzt sind die zum Vergleich heranzuziehenden
Angaben der betreffenden Arzneibücher.

2. Nachweis des Loganins.

1 ml Brechnußtinktur bzw. eine Lösung von etwa 0,1 g Brechnußextrakt in 1 ml verdünntem Alkohol wurden jeweils mit 10 Tropfen verdünnter Schwefelsäure in einem Porzellanschälchen auf dem Wasserbad erhitzt. Nach einiger Zeit zeigte sich eine vom Rand gegen die Mitte zu fortschreitende rotviolette Färbung.

Eine Bestimmung des Trockenrückstandes der Tinctura Strychni sieht weder das DAB.6 noch das ÖAB.9 vor^{*)}. Trotzdem wurde diese Untersuchung bei der verwendeten Tinktur deshalb durchgeführt, weil anhand des Trockenrückstandes die gesamten nichtflüchtigen Inhaltsstoffe der Tinktur erfaßt und zu denen des Extrakts in Beziehung gesetzt werden konnten (s. S. 76). Der gefundene Wert des Trockenrückstandes (1,36%) stimmt gut mit dem sowohl von GSTIRNER und MANNS (83) als auch von BIEL (65) für die entsprechende Mazerationstinktur erhaltenen Wert (beide 1,30%) überein.

Summarisch läßt sich aus Tab. 1 entnehmen, daß beide Galenika in qualitativer Hinsicht im wesentlichen den Anforderungen des DAB.6 genügten und auch den Bestimmungen des ÖAB.9 entsprachen. Die einzige auffällige Abweichung bestand in dem andersartigen Aussehen des verwendeten Extractum Strychni (grünlichgelb statt "braun" lt. DAB.6). Die Erklärung hierfür ist wahrscheinlich der besonders hohe Feinheitsgrad des gelieferten Extraktpulvers, da nach allgemeiner Erfahrung pflanzliche Trockenextrakte bei sehr feiner Verreibung eine hellere Farbe annehmen.

^{*)} Während das DAB.6 den Trockenrückstand von Tinkturen überhaupt nicht ermitteln läßt, beschränkt das ÖAB.9 dieses Kriterium auf die offizinellen Tinkturen, für die kein bestimmter Gehalt an wirksamen Stoffen vorgeschrieben ist.

Nach GSTIRNER (102) kann der Trockenrückstand von Tinctura Strychni DAB.6 1,2 - 1,6% betragen.

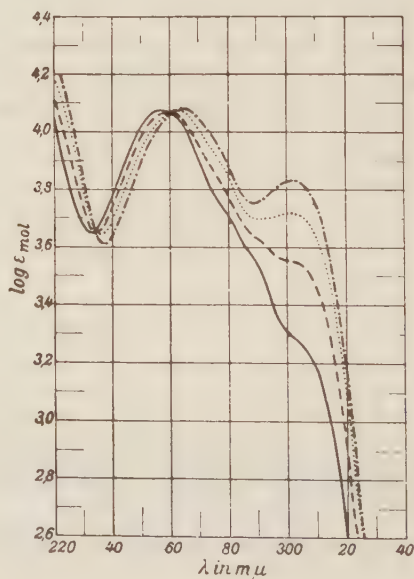
b. Spektrophotometrie

Mit Hilfe der Spektrophotometrie war eine qualitative Bestimmung der Galenika in folgenden Punkten möglich:

1. Durch Vergleich des Gesamtspektrums von Extractum bzw. Tinctura Strychni mit dem Spektrum der aus dem entsprechenden Galenikum isolierten Gesamtalkaloide konnte für jedes Galenikum innerhalb eines bestimmten Wellenbereichs die Mehrabsorption ermittelt werden, die durch die im Galenikum enthaltenen nichtalkaloidischen Begleitstoffe bedingt war.
2. Durch Vergleich der Gesamtspektren der auf den gleichen Gesamtalkaloidgehalt eingestellten Galenika konnte festgestellt werden, ob und inwieweit sich Extractum und Tinctura Strychni unter dieser Voraussetzung voneinander unterschieden.
3. Unter der gleichen Voraussetzung wie unter 2) konnte außerdem festgestellt werden, ob sich die Spektren der aus den einzelnen Galenika isolierten Gesamtalkaloide voneinander unterschieden, d.h. ob sich der Gesamtalkaloidgehalt beider Galenika aus

Abb. 3. Mischspektren von Strychnin und Brucin in 0,1 n HCl (nach JENTZSCH).

	Strychnin (Mol%)	Brucin (Mol%)
—	80	20
- - -	60	40
.....	40	60
- . - . -	20	80



jeweils den gleichen Anteilen an Strychnin und Brucin zusammensetzte oder nicht. Dies war nach den Untersuchungen von JENTZSCH (103) dadurch möglich, daß sich die Mischspektren von Strychnin und Brucin in Abhängigkeit von dem Anteil beider Alkaloide am Gesamtalkaloidgehalt charakteristisch verändern (s. Abb. 3).

Methodik. Nach quantitativer Analyse der Brechnußpräparate (siehe S. 65), die für den Extrakt 14,2% und für die Tinktur 0,220% Gesamtalkaloide ergab, wurde eine Stammlösung von 1,55g Extractum Strychni in 98,45g Spiritus dilutus DAB.6 (= Äthanol, 70 Vol.%) hergestellt⁺), die damit in ihrem Gesamtalkaloidgehalt und Solvens der Tinctura Strychni entsprach. Tinktur und Extrakt-Stammlösung wurden anschließend in gleicher Weise so weit mit Spir. dil. verdünnt, bis ihre Extinktionen bei Verwendung von 1 cm - Quarzküvetten im Wellenbereich von 420 - 220 mμ die günstigsten Meßwerte annahmen. Dies war bei einer Verdünnung von 1 : 100 (V/V) der Fall. Die Absorptionskurven wurden mit einem Beckman-Spektralphotometer, Modell DB, bestimmt und automatisch aufgezeichnet. Die Messung der Gesamtabsorption der Galenika erfolgte kompensatorisch gegen das reine Lösungsmittel, also Spir. dil..

Die ebenso gemessenen Lösungen der isolierten Alkaloide wurden wie folgt hergestellt: Aus 20,00g Tinktur bzw. Extrakt-Stammlösung wurden die Gesamtalkaloide nach der DAB-Methode extrahiert. Genau 4/5 Gewichtsteile des jeweiligen Alkaloidextraktes wurden nach dem Verdampfen des Extraktionsmittels (Äther/Chloroform) in soviel Spir. dil. gelöst, daß das Gewicht der Alkaloidlösung 16,00g betrug und damit der aliquoten Ausgangsmenge von Tinktur bzw. Extrakt-Stammlösung entsprach. Diese Alkaloidlösungen wurden mit Spir. dil. in demselben Maße verdünnt wie die auf den gleichen Gesamtalkaloidgehalt eingestellten Galenika-Lösungen, also im Verhältnis 1 : 100.

Zum anschaulichen Vergleich der Absorptionsspektren der so präparierten Lösungen wurden die durch automatische Registrierung erhaltenen Kurvenbilder wahlweise übereinandergezeichnet (s. Abb. 4 - 6).

⁺) Diese Stammlösung enthält den 64,5ten Teil aller Extraktbestandteile. Sie wird im folgenden auch als "Solutio Extracti Strychni" bezeichnet.

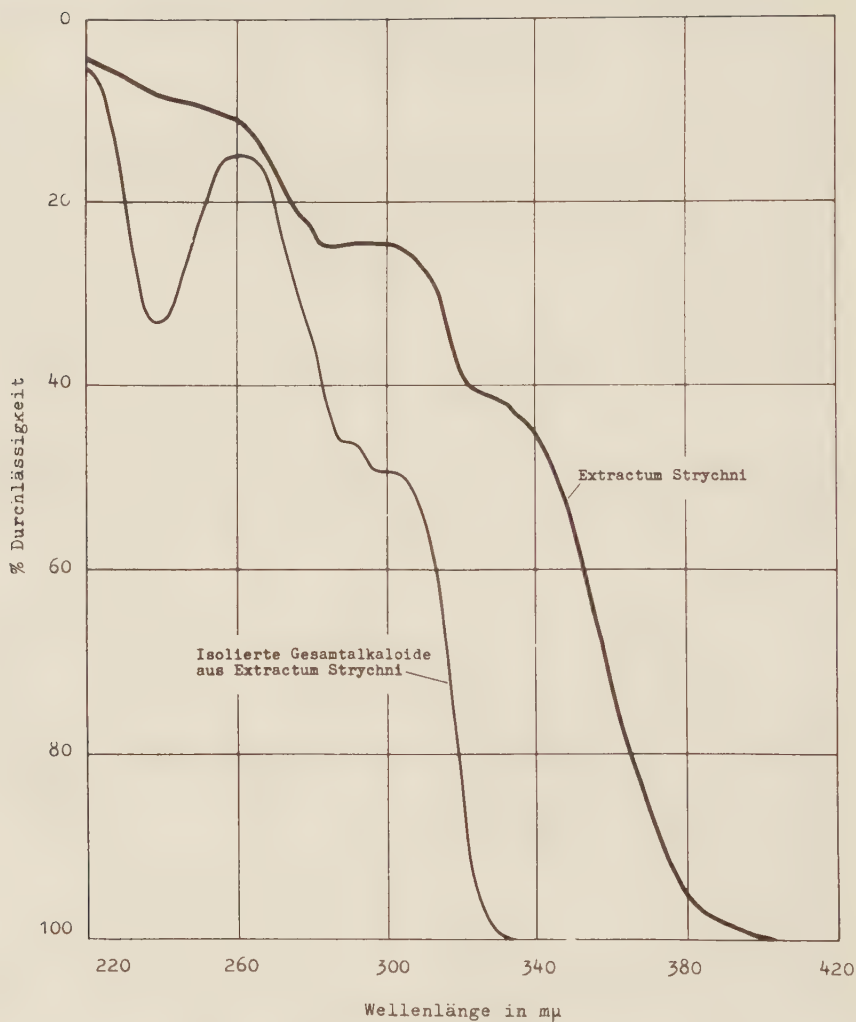


Abb. 4. Nachzeichnung der automatisch registrierten Absorptionsspektren von Extractum Strychni und den daraus isolierten Gesamtalkaloiden.

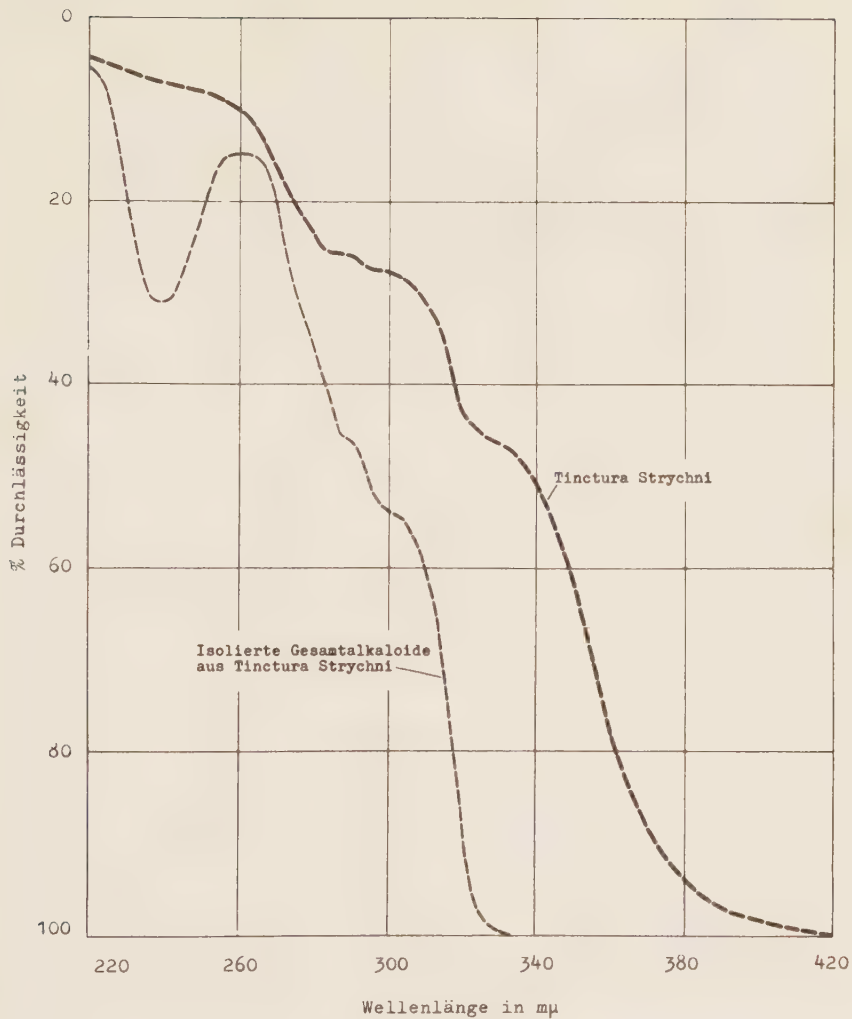


Abb. 5. Nachzeichnung der automatisch registrierten Absorptionsspektren von Tinctura Strychni und den daraus isolierten Gesamtalkaloiden.

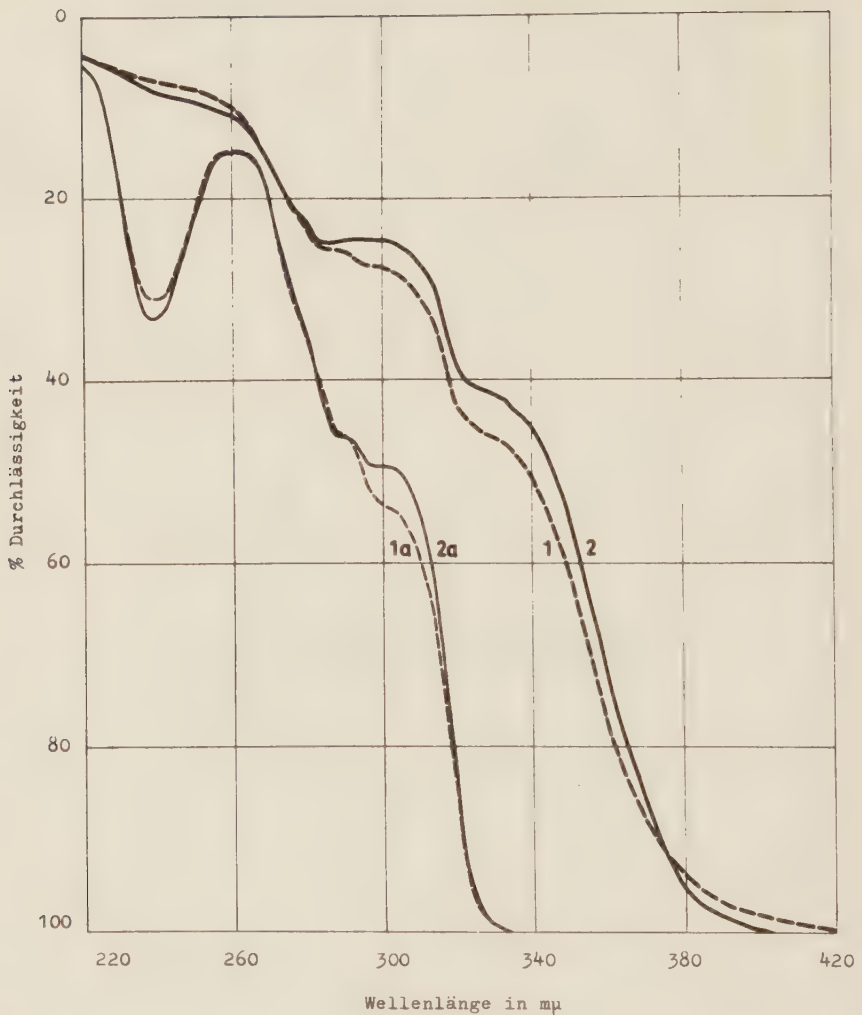


Abb. 6. Nachzeichnung der automatisch registrierten Absorptionsspektren beider Brechnuß-Galenika und der daraus isolierten Gesamtalkaloide. 1) Tinctura Strychni, 2) Extractum Strychni, 1a) Gesamtalkaloide der Tinktur, 2a) Gesamtalkaloide des Extrakts.

Untersuchungsergebnis. Anhand der wiedergegebenen Kurvenbilder lassen sich zu den eingangs genannten Punkten folgende Aussagen machen:

Ad 1). Wie Abb. 4 und 5 zeigen, ist sowohl bei Extractum Strychni als auch bei Tinctura Strychni die durch die nichtalkaloidischen Begleitstoffe bedingte Mehrabsorption gegenüber den in den Galenika jeweils enthaltenen Gesamtalkaloiden im Wellenbereich von 220-420 mp nicht unbeträchtlich. Die Mehrabsorptions-Flächen (zwischen Galenikum- und Reinalkaloidkurve) sind bei beiden Galenika von ähnlicher Gestalt; die beim Extrakt bestehende Mehrabsorption übertrifft jedoch die der Tinktur an Ausmaß. Daraus kann geschlossen werden, daß bei gleichem Gesamtalkaloidgehalt die Extrakt-Stammlösung einen relativ höheren Gehalt an nichtalkaloidischen Begleitstoffen aufweist als die Tinktur.

Ad 2). Aus Abb. 6 geht hervor, daß die Gesamtspektren beider Galenika einen zwar ähnlichen Verlauf zeigen, aber in bestimmten Wellenbereichen mehr oder weniger stark in der einen oder anderen Richtung voneinander abweichen. So zeigt der Extrakt im Wellenbereich von 270-370 mp eine stärkere, in den Wellenbereichen von 220-270 mp und 370-420 mp dagegen eine etwas schwächere Absorption als die Tinktur. Auf Grund der komplexen Zusammensetzung der Galenika lassen sich jedoch keine weiteren Schlüsse aus diesem Befund ziehen.

Ad 3). Aus Abb. 6 geht weiter hervor, daß auch die Absorptionsspektren der isolierten Gesamtalkaloide beider Galenika einander ähnlich sind. Eine Abweichung der dafür erhaltenen Kurven ist aber besonders im Wellenbereich von 290-320 mp evident. Diese Abweichung bedeutet - wie durch Vergleich von Abb. 6 mit Abb. 3 unschwer festzustellen ist -, daß der Gesamtalkaloidgehalt des Extraktes einen größeren Brucin- bzw. kleineren Strychninanteil aufweist als der Gesamtalkaloidgehalt der Tinktur. Dieser Befund wurde durch das Ergebnis der getrennten quantitativen Bestimmung von Strychnin und Brucin in beiden Galenika bestätigt.

c. Papierchromatographie

Die Papierchromatographie, die durch ihre Weiterentwicklung in den letzten Jahren zu einer unentbehrlichen Untersuchungsmethode in der Pflanzenanalyse geworden ist, ermöglichte im vorliegenden Fall nicht nur den schnellen und getrennten Nachweis der Brechnußalkaloide, sondern auch die qualitative und teilweise sogar quantitative Bestimmung einiger nichtalkaloidischer Inhaltsstoffe der verwendeten Galenika, wie Chlorogensäure, Loganin bzw. Loganinsäure und Aminosäuren bzw. Amine.

Allgemeine Methodik. Alle eigenen chromatographischen Analysen der Brechnußpräparate wurden in Anlehnung an hierüber bereits veröffentlichte Untersuchungen anderer Autoren (12, 51, 59 - 61, 77 - 81, 104-106) nach bekannten allgemeinen Vorschriften (107 - 109) durchgeführt.

Als Testlösungen dienten die unbehandelte Tinktur und die auf S. 29 beschriebene äquivalente Lösung des Extraktes sowie Lösungen der reinen Vergleichssubstanzen in Äthanol (70%). Zur eventuellen Beurteilung auch quantitativer Verhältnisse wurden sämtliche Lösungen mit Mikropipetten abgemessen und so auf die Startpunkte der Papiere aufgetragen, daß die relative Fleckengröße nie 1 cm im Durchmesser überschritt.

Um eine möglichst einheitliche Übersicht über die verschiedenen Ergebnisse zu erhalten, kamen bei allen Untersuchungen dieselbe Methode (aufsteigend) und dieselbe Papiersorte (Schleicher & Schüll Nr. 2043 b mgl, Ausmaße 188 x 278 mm) zur Anwendung. Bei der Beschreibung der einzelnen Nachweismethoden wird deshalb von einer nochmaligen Erwähnung dieser konstanten Bedingungen abgesehen.

Die Zahl der Fließmittel, die im Falle von sauren Butanol-Gemischen nach einer Einstellzeit von ca. 24 Stunden nie länger als 3 Tage Verwendung fanden, wurde auf folgende Gemische beschränkt:

Nr. 1	n-Butanol/Eisessig/Wasser	4:1:1	(61),
Nr. 2	n-Butanol/Eisessig/Wasser	10:1:4	(104),
Nr. 3	n-Butanol/Ameisensäure/Wasser	10:1:10	(105),
Nr. 4	Eisessig/Wasser	15:85	(106),
Nr. 5	Phenol/Wasser	4:1	(107).

Diese Gemische sind nachstehend nur mit den entsprechenden Nummern bezeichnet.

Alle Entwicklungen der Chromatogramme erfolgten bei einer Raumtemperatur von $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ohne oder nach vorheriger Klimatisierung der Papiere. Die Laufstrecken der Fließmittel betrugen stets 24-25 cm.

Die als Reagentien verwendeten Sprüh- und Tauchlösungen wurden, wenn nichts anderes erwähnt ist, nach der MERCK'schen Vorschriftenammlung (110) hergestellt. Zu ihrer Charakterisierung wird deshalb im folgenden nur der Name des Reagens und dahinter die Nummer der genannten Vorschriftenammlung in Klammern () angegeben.

Nachweis der Alkaloide

Für die papierchromatographische Untersuchung der Alkaloide, bei der es vor allem auf die Trennung und Identifizierung von Strychnin und Brucin ankam, wurden Vergleichslösungen aus den Handelspräparaten "Strychninum purum cryst. Merck" und "Brucinum p.a. Merck" in Äthanol (70%) hergestellt, die jeweils einen Alkaloidgehalt von 0,125% besaßen. Diese Lösungen entsprachen damit der offizinellen Tinctura Strychni DAB.6 insofern, als für diese ein durchschnittlicher Gesamtalkaloidgehalt von 0,25%, bestehend aus gleichen Teilen Strychnin und Brucin, vorgeschrieben ist.

Die einzelnen Testlösungen wurden mengengleich im Abstand von je 2,5 cm in der Reihenfolge Brucin (B), Strychnin (S), Brucin + Strychnin $\overline{aa}$ (B+S), Sol. Extr. Strychni (E) und Tinct. Strychni (T) auf die Startlinie der Papiere aufgetragen (s. Abb. 7 a u. b).

Als Fließmittel kamen die Gemische Nr. 1, 2 und 3 zur Anwendung.

Als Reagentien auf beide Alkaloide wurden benutzt:

1. Kaliumjodid-Platinchloridwasserstoff (Nr. 4), im folgenden auch Jodplateat-Reagens genannt.
2. Modifiziertes Dragendorff-Reagens nach THIES und REUTHER als Tauchlösung (Nr. 29).
3. Modifiziertes Dragendorff-Reagens nach MUNIER und MACHEBOEUF (Nr. 30 a).



B S B+S E T

Abb. 7 a.

Papierschromatogramm zum Nachweis von Strychnin (S) und Brucin (B) in Extractum Strychni (E) und in Tinctura Strychni (T).

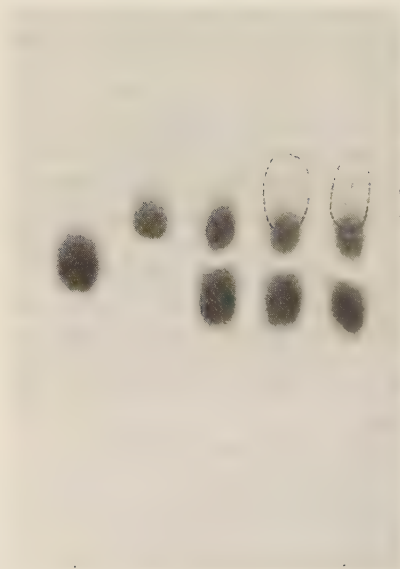
Fließmittel:

n-Butanol/Ameisensäure/Wasser
10 : 1 : 10.

Detektionsmittel:

Modifiz. Dragendorff-Reagens.

(nicht retuschiert)



B S B+S E T

Abb. 7 b.

wie Abb. 7 a.

Detektionsmittel:

Jodplateat-Reagens.

(nicht retuschiert)

Die umstrichelten Felder deuten die Lage von Chlorogensäure (1) und Kaffeesäure (2) an.

Tabelle 2

Nachweis der Alkaloide.

Rf-Werte der mit Jodplateat-Reagens erhaltenen Farbflecke.

Fließmittel Nr.	Reinsubstanzen (Basen)			Galenika	
	Brucin	Strychnin	Brucin + Strychnin	Extrakt	Tinktur
1	0,60	0,66	0,64 0,58	0,63 0,57	0,64 0,58
2	0,53	0,61	0,61 0,52	0,61 0,51	0,61 0,52
3	0,45	0,55	0,54 0,44	0,55 0,44	0,55 0,44

Versuchsbedingungen:

Testmengen: je 0,04 ml Testlösung (s. Text)

Fließmittel: Nr. 1 = n-Butanol/Eisessig/Wasser 4:1:1
Nr. 2 = n-Butanol/Eisessig/Wasser 10:1:4
Nr. 3 = n-Butanol/Ameisens./Wasser 10:1:10

Klimatisationszeit: 14 h 30'

Laufzeit: Fließmittel Nr. 1 = 10 h
Fließmittel Nr. 2 = 10 h 30'
Fließmittel Nr. 3 = 8 h 30'

Bei Ausgangsmengen bis zu 0,1 ml pro Testlösung ließ sich mit allen drei Fließmitteln eine gute Trennung der Alkaloide erzielen, die auf Grund der übereinstimmenden Farbreaktionen und Rf-Werte als Strychnin und Brucin identifiziert werden konnten (s. Tab. 2). Die besten Trenneffekte wurden bei der Entwicklung von Testmengen zwischen 0,03 und 0,04 ml mit dem Fließmittel Nr. 3 erhalten.

Als Detektionsmittel zeigte sich das in der bisherigen Literatur über die papierchromatographische Analyse der Strychnos-Galenika nicht genannte Jodplateat-Reagens den üblicherweise angewandten modifizierten Dragendorff-Reagentien weit überlegen (s. Abb. 7a u. b). Neben den festgestellten, auf S. 38 unten angegebenen Vorteilen⁺) war für die Problemstellung der vorliegenden Arbeit noch eine andere

Reaktion des Jodplateats von besonderem Interesse. Nach dem Besprühen der Chromatogramme mit Jodplateat-Lösung wurde nämlich folgende Beobachtung gemacht: Sowohl die Flecke der reinen Brucinbase als auch die des in den Galenika enthaltenen Brucins waren und blieben übereinstimmend blauviolett gefärbt. Strychnin verhielt sich jedoch anders. Hier nahmen die Flecke der reinen Strychninbase nach ca. 10 - 15 min einen deutlich wahrnehmbaren Grünton an, die Strychnin-Flecke der Galenika dagegen behielten die anfänglich einheitliche rotviolette Farbe bei. - Dieser Kontrast, der allerdings nicht bei allen Chromatogrammen gleich stark in Erscheinung trat, ist lange erkennbar.

Nachweis der Chlorogen- und Kaffeesäure sowie allgemeine Prüfung auf andere im filtrierten UV-Licht fluoreszierende Inhaltsstoffe

Aus den weiter vorne genannten Gründen (s. S. 11) fand bei der papierchromatographischen Untersuchung der Galenika auf Chlorogensäure auch die Prüfung auf Kaffeesäure Berücksichtigung.

Zum Vergleich dienten 0,1%ige Lösungen (G/V) der von der Firma Carl Roth, Karlsruhe, bezogenen Handelspräparate "Chlorogensäure puriss." und "Kaffeesäure purum". Günstigste Auswertungen ergaben Ausgangsmengen dieser Vergleichslösungen zwischen 0,01 und 0,04 ml.

Die einzelnen Testlösungen wurden analog der Anordnung beim Nachweis der Alkaloide aufgetragen. Als Fließmittel kamen ebenfalls die Gemische Nr. 1, 2 und 3 zur Anwendung.

Die Identifizierung beider Säuren erfolgte hauptsächlich durch den Fluoreszenz-Nachweis im UV-Licht einer Analysenquarzlampe.

*) Anm. zu S. 37. Vorteile des Jodplateat-Reagens gegenüber modifizierten Dragendorff-Reagentien:

1. Intensivere und differenzierte Farbreaktion mit Strychnin (rot-, später grünviolett) und Brucin (blauviolett).
2. Lange Beständigkeit der Farbflecke ohne Stabilisierung. (Noch nach 3 - 6 Monaten gut zu erkennen!)
3. Größerer Farbkontrast zwischen Alkaloidflecken und Papieruntergrund (fleischfarben), der sich durch späteres Aufhellen des Papieruntergrundes (fast farblos) noch verstärkt.

Ein Besprühen der Chromatogramme mit 1%iger äthanolischer Aluminiumchloridlösung (106) oder 2%iger methanolischer Zirkonoxychloridlösung (111) sollte nicht nur die Fluoreszenz beider Säuren verstärken, sondern auch Flecke eventuell außerdem noch vorhandener fluoreszierender Inhaltsstoffe der Galenika besser oder zusätzlich sichtbar machen. Eine weitere Möglichkeit zur Detektion der Chlorogen- und Kaffeesäure war durch ihre Farbreaktionen mit Phosphormolybdänsäure (2%ige Lösung in gleichen Teilen Wasser und Äthanol) und Ferrichlorid (2%ige Lösung in Äthanol) (44) gegeben^{*)}.

Nach der Entwicklung mit jedem der 3 verwendeten Fließmittel wiesen beide Brechnußpräparate ohne Reagenszusatz im filtrierte UV-Licht mehrere Fluoreszenzflecke auf, die sowohl innerhalb jedes Galenikums hinsichtlich Ausmaß und Intensität differierten als auch, untereinander verglichen, bei Extrakt und Tinktur zahlen- und größenmäßig nicht übereinstimmten. Durch Behandlung mit Aluminiumchlorid- bzw. Zirkonoxychloridlösungen wurden diese Unterschiede nicht nur durch weitere Farbabweichungen der bereits erkennbaren, sondern auch durch zusätzliches Auftreten neuer Flecke noch verstärkt.

Aus Tab. 3, die die Auswertung eines solchen Chromatogramms wiedergibt, geht hervor, daß die verwendeten Brechnußpräparate mindestens je 10 Stoffe enthielten, die sich von den Alkaloiden durch ihre abweichenden Rf-Werte und ihren Fluoreszenzcharakter unterscheiden.

Derjenige Stoff, dessen Fluoreszenzfleck bei beiden Galenika alle anderen an Intensität und Flächenausmaß weit übertraf, wurde auf Grund gleicher Rf-Werte (0,54 in Tab. 3) und gleicher Farbreaktionen als Chlorogensäure identifiziert (s. auch Abb. 8 u. 9).

Ein in seinem Rf-Wert (0,72 in Tab. 3) der Kaffeesäure ent-

^{*)} Die UV-Fluoreszenz wird nur durch die Molekülstruktur der reinen Kaffeesäure bzw. der Kaffeesäurekomponente der Chlorogensäure (vgl. Abb. 2, S. 12) verursacht. Bei gleichen Ausgangsmengen zeigt deshalb die Chlorogensäure nur etwa die halbe Fluoreszenzintensität der Kaffeesäure.

Chlorogen- und Kaffeesäure werden nach dem Besprühen mit Phosphormolybdänsäure-Reagens und anschließendem Aufhängen der Chromatogramme in ammoniakatmosphäre als blaugrüne Flecke sichtbar, die später nach Graugrün verblasen. Ferrichloridlösung färbt beide Säuren grün. Die Reaktion ist jedoch schwächer als die mit Phosphormolybdänsäure/Ammoniak.

Tabelle 3

Rf-Werte, Größe, Intensität und Farbe der im filtertierten UV-Licht sichtbaren Fluoreszenzflecke bei Extractum und Tinctura Strychni.

Rf-Wert	Größe in mm ²		Intensität		F a r b e		
	Extrakt	Tinktur	Extrakt	Tinktur	ohne Reag.	mit Al Cl ₃	mit ZrOCl ₂
0,85	157	-	+				gbr
0,81	-	156		+		hbl	hbl
0,72	187	-	++		hbl	hbl	hbl
0,62	80	80	+	(+)	ggr	hbl	hbl
0,54	566	490	+++	+++	blgr	ggr	ggr
0,45	141	151	++	+	hbl	hbl	hbl
0,38	168	98	+	(+)		o	o
0,25	75	104	(+)	(+)			gbr
0,22	62	111	(+)	+			gbr
0,16	50	79	+++	+++	blgr	g	ggr
0,12	52	88	(+)	+			gbr
0,08	54	83	+	+		g	blgr

Zeichenerklärung:

Intensität: (+) = schwach
 + = deutlich
 ++ = stark
 +++ = sehr stark

Farbe: h = hell
 bl = blau
 br = braun
 g = gelb
 gr = grün
 o = orange

Versuchsbedingungen:

Testmengen: 0,05 ml Tinctura bzw. Sol. Extr. Strychni
 Fließmittel: Nr. 1 = n-Butanol/Eisessig/Wasser 4:1:1
 Klimatisationszeit: 3 h bei Kammerfüllung
 Laufzeit: 10 h 30'
 Größenbestimmung
 d. Fluoreszenzflecke: planimetrisch mit Hilfe von Millimeterpapier



Abb. 8.

Papierchromatogramm zum Nachweis von Chlorogensäure (C) u. Kaffeesäure (K) in Extr. Strychni (E) und Tinct. Strychni (T).

Fließmittel:

n-Butanol/Eisessig/Wasser 10:1:4.

Detektionsmittel:

Phosphormolybdänsäure/Ammoniak (Farbflecke) und filtrierte UV-Licht (umstrichelte Flächen).

(Nicht retuschierte Kunstlicht-Aufnahme.)

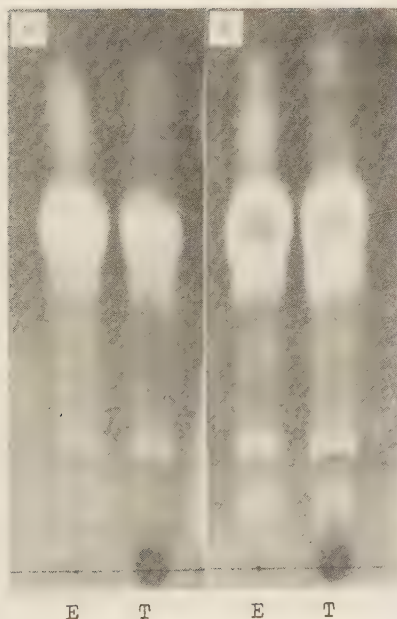


Abb. 9.

Papierchromatogramm zum Nachweis von im UV-Licht fluoreszierenden Stoffen in Extractum Strychni (E) und Tinctura Strychni (T).

Fließmittel:

n-Butanol/Eisessig/Wasser 4:1:1.

Detektionsmittel:

Filtrierte UV-Licht + Reagens,

a) Aluminiumchlorid,
b) Zirkonoxylchlorid.

(Nicht retuschierte UV-Licht-Aufnahme.)

Tabelle 4

Nachweis der Chlorogen- und Kaffeesäure.

Rf-Werte der im filtrierten UV-Licht bzw. nach Reaktion mit Phosphor-molybdänsäure/Ammoniak aufgetretenen Fluoreszenz- bzw. Farbflecke.

Fließ- mittel Nr.	Reinsubstanzen			Galenika	
	Chlorogens.	Kaffeesäure	Chlorogens.+ Kaffeesäure	Extrakt	Tinktur
1	0,49	0,72	0,72 0,50	0,72 0,50	- 0,51
2	0,51	0,76	0,75 0,52	0,75 0,52	- 0,52
3	0,58	0,77	0,77 0,59	0,77 0,59	- 0,59
4	0,70	0,54	0,69 0,55	0,69 0,55	0,69 -

Versuchsbedingungen:

Testmengen: 0,04 ml Tinct. bzw. Sol. Extr. Strychni;
0,03 ml Chlorogen- bzw. Kaffeesäurelg. (0,1%)

Fließmittel: Nr. 1 = n-Butanol/Eisessig/Wasser 4:1:1
Nr. 2 = n-Butanol/Eisessig/Wasser 10:1:4
Nr. 3 = n-Butanol/Ameisens./Wasser 10:1:10
Nr. 4 = Eisessig/Wasser 15:85

Klimatisationszeit: keine

Laufzeit: Fließmittel Nr. 1 = 10 h 30'
Fließmittel Nr. 2 = 10 h 50'
Fließmittel Nr. 3 = 9 h 50'
Fließmittel Nr. 4 = 3 h 15'

sprechender Fluoreszenzfleck konnte bei Extractum, nicht aber bei Tinctura Strychni beobachtet werden. Größe und Intensität dieses Fleckes betrug höchstens ein Drittel derjenigen des Chlorogensäure-Fleckes im selben Galenikum.

Die nach verschiedenen Entwicklungen stets sehr gut übereinstimmenden Rf-Werte der entsprechenden Fluoreszenzflecke beider Reinsubstanzen (Chlorogensäure und Kaffeesäure) und beider Galenika sind

in Tab. 4 zusammengestellt. Durch die bei Anwendung des Fließmittelsystems Nr. 4 (15% ige Essigsäure) bei Extractum Strychni in gleicher Weise wie bei den Reinsubstanzen aufgetretene Rf-Wert-Umkehr der Fluoreszenzzonen (106) konnte der mit den Fließmitteln Nr. 1-3 erhobene Befund (zusätzliches Vorliegen von Kaffeesäure) gesichert werden.

Alle anderen beim papierchromatographischen Nachweis der Chlorogen- und Kaffeesäure in den galenischen Zubereitungen mitbeobachteten Fluoreszenzflecke wurden nicht identifiziert. Auf Grund ihrer Farbreaktionen mit Aluminiumchlorid- und Zirkonoxychloridlösung wird jedoch vermutet, daß es sich bei einigen der in Tab. 3 beschriebenen Fluoreszenzflecke (z.B. mit den Rf-Werten 0,85; 0,38; 0,25; 0,22 und 0,12) um Flavonoide handelt⁺). Diese Vermutung wird dadurch gestützt, daß auch bei der später beschriebenen säulenchromatographischen Entwicklung der Galenika über neutrales oder basisches Aluminiumoxyd am Säulenkopf grünlichgelbe Farbzonen mit Fluoreszenzcharakter auftraten, die in den meisten Fällen analoger Untersuchungen durch adsorbierte Flavonoide bedingt sind (44).

Während durch die eigenen papierchromatographischen Untersuchungen in beiden Brechnußpräparaten insgesamt 12 fluoreszierende Stoffe gefunden wurden, beschränken sich die wenigen diesbezüglichen Angaben in der Literatur auf nur 3-4. HÖRHAMMER und LEUE (59) erwähnen bei Tinctura Strychni DAB.6 unter gleichen Bedingungen (Fließmittel: n-Butanol/Eisessig/Wasser 4:1:5) 3 Fluoreszenzzonen mit den Rf-Werten 0,80, 0,55 und 0,45; KEDVESSY und RÁCZ (60) beschreiben bei Extractum und Tinctura Strychni Ph. Hung. V unter ähnlichen Bedingungen (sauer gepuffertes Whatman-Papier Nr. 4, Fließmittel: n-Butanol/Wasser 1:1) je 2 Fluoreszenzflecke mit durchschnittlichen Rf-Werten von 0,41 und 0,27. In beiden Arbeiten wird nur je einer der genannten Fluoreszenzflecke identifiziert, und zwar übereinstimmend als Chlorogensäure: in der ersteren derjenige bei 0,55, in letzterer derjenige bei 0,41. Ob die von HÖRHAMMER und LEUE bei 0,45 und die von KEDVESSY und RÁCZ bei 0,27

⁺) Viele Flavonoide zeigen nach Behandlung mit Aluminiumchlorid- bzw. Zirkonoxychloridlösung im UV-Licht hauptsächlich gelbe bis gelbbraune, teilweise auch orangegelbe Fluoreszenz (111, 112).

gefundene Fluoreszenz durch denselben Stoff hervorgerufen wird, ist nicht sicher. Die von ersteren Autoren beschriebenen Fluoreszenzflecke mit den Rf-Werten 0,80 und 0,45 dürften aber mit den in der vorliegenden Arbeit bei 0,81 und 0,45 (Tab. 3) gefundenen identisch sein.

Nachweis des Loganins bzw. der Loganinsäure

Im Hinblick auf den von JAMINET (12) erhobenen Befund (s. S. 11) . galt es, mit Hilfe der Papierchromatographie festzustellen, ob auch die in der vorliegenden Arbeit benutzten Galenika kein Loganin, sondern stattdessen Loganinsäure enthielten.

Zu diesem Zweck wurden gleichzeitig Tinctura Strychni (T), Sol. Extr. Strychni (E), eine 0,1%ige Lösung von reinem Loganin⁺ (L) und eine ca. 0,1%ige Lösung des durch alkalische Hydrolyse von reinem Loganin gewonnenen Kaliumsalzes der Loganinsäure⁺⁺ (Ls) mit den Fließmitteln Nr. 1 und 3 entwickelt und anschließend nach der von JAMINET angewandten Detektionsmethode behandelt, indem die getrockneten Papiere mit 2 n äthanolischer Schwefelsäure besprüht und daraufhin 2-3 Minuten bei 100°C im Trockenschrank erwärmt wurden. Nach dieser Behandlung wurden auf den Chromatogrammen der Galenika die für Loganin bzw. Loganinsäure charakteristischen karminroten, außerdem aber auch noch je zwei braune Farbflecke sichtbar (s. Abb. 10)⁺⁺⁺. Die Rf-Werte aller dieser Flecke sind in Tab. 5 zusammengestellt.

⁺ Herr Prof. Dr. Dr. K.W. MERZ, Direktor des Pharmazeut. Instituts der Universität Freiburg i. Br., hatte die große Freundlichkeit, uns reinstes Loganin in genügend großer Menge zu überlassen, so daß es möglich war, nicht nur die papierchromatographischen, sondern auch die später zu beschreibenden pharmakologischen Untersuchungen durchzuführen. Hierfür sei ihm auch an dieser Stelle herzlich gedankt.

⁺⁺ Nach MERZ und LEHMANN (34) entsteht diese Verbindung bei der Hydrolyse von Loganin mit einer stöchiometrisch berechneten Menge 0,1 n KOH infolge Sprengung des Laktonringes des Loganins.

JAMINET (12) benutzte bei seinen Untersuchungen ein mit 0,1 n NaOH erhaltenes Hydrolysat von Loganin als Vergleichssubstanz für Loganinsäure.

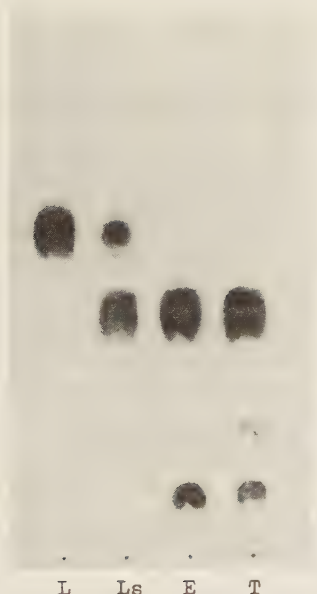


Abb. 10.

Papierchromatogramm zum Nachweis von Loganin (L) bzw. von Loganinsäure (Ls) in Extr. Strychni (E) und Tinct. Strychni (T).

(Ls = alkal. Loganin-Hydrolysat)

Fließmittel:

n-Butanol/Eisessig/Wasser 4:1:1.

Detektionsmittel:

2n äthanol. Schwefelsäure (100°C).

(retuschiert)

+++)) Erst nach Abschluß der vorliegenden Arbeit wurde bekannt, daß KREBS und MATERN (113) bei der papierchromatographischen Untersuchung des Rhizoms von *Menyanthes trifoliata*, das bekanntlich das dem Loganin identische Meliatin enthält, auch 20%ige Antimontrichloridlösung in Chloroform (Carr-Price-Reagens) mit gutem Erfolg als Sprühreagens auf Loganin angewandt haben. Nach dem Trocknen (3-5 min bei 100°C) erscheinen dabei violette Flecke, die im UV-Licht ziegelrot leuchten. Die Empfindlichkeit dieses Nachweises, der den Vorzug hat, stabile Farbflecke zu liefern, liegt wie die des von JAMINET durchgeführten Nachweises bei 5 γ.

Tabelle 5

Nachweis des Loganins bzw. der Loganinsäure.

Rf-Werte der durch Schwefelsäurebehandlung erhaltenen Farbflecke.

Fließmittel Nr.	Reinsubstanzen		Galenika		Farbe
	Loganin, unbehand.	Loganin, hydrolys.	Extrakt	Tinktur	
1	0,59	(0,58) 0,43	-	-	karminrot
			0,43	0,43	karminrot
			0,23	0,23	bräunlich
			0,11	0,11	bräunlich
3	0,48	(0,48) 0,33	-	-	karminrot
			0,32	0,32	karminrot
			0,13	0,13	bräunlich
			0,05	0,05	bräunlich

Versuchsbedingungen:

Testmengen: 0,04 ml Tinct. bzw. Sol. Extr. Strychni;
0,06 ml Loganin- bzw. Loganinhydrolysat-Lsg. (0,1%)

Fließmittel: Nr. 1 = n-Butanol/Eisessig/Wasser 4:1:1
Nr. 3 = n-Butanol/Ameisens./Wasser 10:1:10

Klimatisationszeit: keine

Laufzeit: Fließmittel Nr. 1 = 10 h 30'
Fließmittel Nr. 3 = 10 h

Wie die Tabelle zeigt, besteht eine deutliche Rf-Wert-Differenz zwischen dem reinen Loganin einerseits und dem Loganinhydrolysat bzw. dem in beiden Galenika gefundenen, gleich reagierenden Stoff andererseits. Bei Anwendung der ausgewählten Fließmittel wies dieser Stoff jeweils denselben Rf-Wert auf wie das infolge Hydrolyse des Loganins entstandene Salz der Loganinsäure. - Dieser Befund ergibt in Übereinstimmung mit den Angaben von JAMINET, daß auch in den benutzten Brechnuß-Galenika kein Loganin, sondern Loganinsäure enthalten war.

Der beim Loganinhydrolysat zusätzlich aufgetretene Fleck mit demselben Rf-Wert wie Loganin (s. Abb. 10 und Tab. 5, in Klammern) ist dadurch zu erklären, daß die Hydrolyse nicht quantitativ erfolgte

und deshalb in der Testlösung noch geringe Mengen an Logenin vorhanden waren.

Die bei der oben angegebenen Detektion entstandenen braunen Farbflecke wurden nicht näher identifiziert.

Nachweis von Aminosäuren bzw. Aminen

Da Aminosäuren und Amine (primäre und sekundäre) mit Ninhydrin gleichartig reagieren und papierchromatographisch analog nachgewiesen werden, wurde dieses Reagens (Nr. 1, MERCK) benutzt, um die Brechnußpräparate auch auf diese beiden Stoffgruppen zu prüfen. Anlaß zu dieser Prüfung gaben das von JAMINET (51) in Samen von *Strychnos angolensis* nachgewiesene Vorkommen freier und gebundener Aminosäuren sowie der durch eigene Untersuchungen in den verwendeten Galenika aus *Strychnos nux vomica* ermittelte Mehrgehalt an Stickstoff, bezogen auf die Alkaloide Strychnin und Brucin (s.S.72), der für die Anwesenheit weiterer N-haltiger, nichtalkaloidischer Substanzen beweisend war.

Außer dem allgemeinen Nachweis ninhydrin-positiver Inhaltsstoffe galt die Untersuchung - in Anlehnung an die Angaben von JAMINET - auch der Frage, ob die in den Galenika möglicherweise vorhandenen Aminosäuren frei oder gebunden vorlagen. Eine Aussage in dieser Richtung konnte dadurch erzielt werden, daß beide Galenika zwecks Aufspaltung bestehender Peptidbindungen einer schonenden Hydrolyse unterworfen und die Hydrolysate mit den unbehandelten Testlösungen papierchromatographisch verglichen wurden. Stimmt dann die mit Ninhydrin erhaltenen Farbflecke in ihren Rf-Werten überein, so war das ein Hinweis dafür, daß in den unbehandelten Galenika freie Aminosäuren vorlagen. Differierende Rf-Werte sprachen dagegen für die Existenz gebundener Aminosäuren.

Die Bereitung der Hydrolysate erfolgte in der Weise, daß 2 g Tinct. Strychni nach Einengung im Vakuum und 30 mg Extr. Strychni mit je 3 ml 6 n Salzsäure in Glasröhrchen eingeschmolzen und 12 Stunden im Trockenschrank bei 110°C erhitzt wurden. Die Filtrate der hydrolysierten Galenika wurden im Vakuum eingeeengt und anschließend

mit so viel Spir. dil. versetzt, daß die erhaltenen Lösungen hinsichtlich des ursprünglichen Alkaloidgehaltes den unbehandelten Testlösungen der Galenika entsprachen.

Die Chromatogramme wurden mit den Fließmitteln Nr. 1 und 5 entwickelt.

Wie der aus Tab. 6 ersichtliche papierchromatographische Vergleich zwischen den unbehandelten und hydrolysierten Galenika zeigt, traten nach Detektion mit Ninhydrin-Reagens sowohl bei Verwendung des butanolischen als auch bei Verwendung des phenolischen Fließmittels in ihren Rf-Werten übereinstimmende und differierende Farbzonen auf, so daß daraus auf die Anwesenheit freier und gebundener Aminosäuren

in Extractum und Tinctura Strychni geschlossen werden kann. Die Vermutung, daß es sich bei den durch Ninhydrin angefärbten Substanzen hauptsächlich um Aminosäuren handelte, stützt sich auf die Gegenüberstellung der bei den eigenen Untersuchungen gefundenen Rf-Werte mit den der Literatur (114, 115) entnommenen, unter gleichen Bedingungen erhaltenen Rf-Werten einiger Aminosäuren (s. Tab. 6)⁺).

Der Tabelle ist ferner zu entnehmen, daß sich die unbehandelten Galenika bei Verwendung beider Fließmittel dadurch unterscheiden, daß der Extrakt jeweils eine ninhydrin-positive Substanz mehr aufwies als die Tinktur (s. auch Abb. 11).

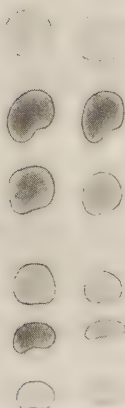


Abb. 11. Papierchromatogramm zum Nachweis von ninhydrin-positiven Stoffen in Extr. Strychni (E) und Tinct. Strychni (T), beide unbehandelt.

Fließmittel: Phenol/Wasser 4:1. (retuschiert)

E T

⁺) JAMINET hat in den Samen von *Strychnos angolensis* und in den Blättern von *Strychnos Icaja* 4 Aminosäuren gefunden, die nach dem vorliegenden Befund vermutlich auch in Extr. und Tinct. Strychni enthalten sind: Asparaginsäure, Glutaminsäure, Prolin und Valin. Für das Vorkommen der weiterhin von ihm gefundenen Aminosäuren (Threonin, Alanin, Phenylalanin, Leucin und Tyrosin) in den hier untersuchten Galenika liegt kein Anhaltspunkt vor.

Tabelle 6

Nachweis von Substanzen mit positiver Ninhydrin-Reaktion.

Vergleich der Rf-Werte

Fließ- mittel Nr.	Unbehand. Galenika		Hydrolys. Galenika		Freie Aminosäuren, unt. gl. Bed. (Lit.- gef. Rf-Werte) stelle	
	Extrakt	Tinktur	Extrakt	Tinktur		
1	0,60	0,60	0,58	0,59	Val. 0,60	114
	-	-	0,53	0,55		
	0,45	0,45	0,43	0,43	Pro. 0,43	
	0,31	0,30	0,30	0,31	Glu. 0,30	
	0,27	0,27	0,28	0,27	Ser. 0,27	
	-	-	0,24	0,24	Asp. 0,24	
	0,20	0,20	-	-		
	-	-	0,15	0,15	Lys. 0,14	
	0,11	0,11	-	-		
	-	-	0,08	0,08		
	0,06	-	-	-		
5	0,84	0,85	0,86	0,86	Pro. 0,87	115
	-	-	0,76	0,78	Val. 0,78	
	0,70	0,70	0,69	0,71		
	-	-	0,61	0,62		
	0,57	0,56	-	-		
	-	-	0,49	0,51	Lys. 0,50	
	0,40	0,39	-	-		
	0,34	0,33	0,34	0,34	Ser. 0,33	
	0,24	0,24	0,23	0,24	Glu. 0,24	
	-	-	0,18	-		
	-	-	0,15	0,15	Asp. 0,14	
	0,10	-	-	-		

Versuchsbedingungen:

Testmengen: 0,04 ml Tinctura bzw. Sol. Extr. Strychni
 Fließmittel: Nr. 1 = n-Butanol/Eisessig/Wasser 4:1:1
 Nr. 5 = Phenol/Wasser 4:1
 Klimatisationszeit: keine
 Entwicklungszeit: Fließmittel Nr. 1 = 10 h 30'
 Fließmittel Nr. 5 = 14 h

2. Quantitative Analyse

a. Alkaloide

Für die quantitative Bestimmung der Alkaloide in Extractum und Tinctura Strychni kamen die nachstehend näher beschriebenen Methoden zur Anwendung:

1. Bestimmung der Gesamtalkaloide nach dem DAB.6.
2. Bestimmung der Gesamtalkaloide und des Strychnins nach der Pharmacopoea Danica 1948.
3. Adsorptionschromatographische Bestimmung der Gesamtalkaloide nach KUNTZE und HÄDICKE (100).
4. Adsorptionschromatographische Bestimmung der Gesamtalkaloide nach GRAF (86).
5. Verteilungschromatographische Trennung und Bestimmung des Strychnins und Brucins nach BRISEID JENSEN und BAERHEIM SVENDSEN (95).
6. Spektrophotometrische Bestimmung des Strychnins und Brucins nach JENTZSCH (32, 103).

Die Ergebnisse dieser Gehaltsbestimmungen sind in den Tabellen 7 und 8 auf Seite 63 und 64 zusammengestellt.

Methode nach dem DAB.6

Die Bestimmung des Gesamtalkaloidgehaltes erfolgte ohne prinzipielle Abweichung nach der Vorschrift des DAB.6. Die übliche Genauigkeit dieser Methode (mittlerer Fehler bei etwa $\pm 3\%$) konnte durch folgende Maßnahmen auf einen mittleren Fehler von weniger als $\pm 1\%$ erhöht werden:

- a. Verwendung von Schliffgefäßen bei der Einwaage und Aufbewahrung der flüchtigen Lösungsmittel.
- b. Kontrolle des benutzten Äthers auf Peroxydfreiheit.
- c. Titration mit 0,02 n statt 0,1 n Salzsäure.
- d. Benutzung des viel schärfer als Methylrot allein (offizineller

Indikator) umschlagenden Mischindikators Methylrot-Bromkresolgrün (116) [†]).

- e. Berücksichtigung sämtlicher Einwaagen mit analytischer Genauigkeit bei der Berechnung des Alkaloidgehaltes.

Zu b). Wie EDER und RUCKSTUHL (117) sowie SAMDAHL und HADLER VIHOVDE (118) feststellten, werden Strychnin und Brucin durch das Ätherautoxyd in die bei der Titration nicht erfaßbaren Genalkaloide (Aminooxyde) übergeführt. Der bei den eigenen Wertbestimmungen zur Extraktion der Alkaloide verwendete Äther wurde deshalb stets mit Vanadin-Schwefelsäure-Reagens DAB.6 auf die Anwesenheit von Peroxyd geprüft und erforderlichenfalls durch Adsorptionschromatographie über Aluminiumoxyd Woelm, basisch I, peroxydfrei gemacht (119).

Zu e). Die offizinelle Formel für die Berechnung des Gesamtalkaloidgehaltes von Tinctura Strychni DAB.6 lautet z.B.

$$V \cdot 0,03642 \cdot \frac{(8 + 17)}{20 \cdot 20} \cdot 100 =$$

$$\frac{V \cdot 0,03642 \cdot 100}{16} = \text{Alkaloidgehalt in 100 g Tinktur.}$$

Hierbei bedeuten:

V = Verbrauch an 0,1 n Salzsäure in ml
(1 ml 0,1 n Salzsäure entspricht 0,03642 g Alkaloiden, berechnet auf gleiche Teile Strychnin und Brucin).

16 = Diejenige Menge Tinktur, deren Alkaloidanteil alkalimetrisch erfaßt wird. Sie ergibt sich daraus, daß von dem Alkaloidauszug aus der gesamten Einwaage der Tinktur (20 g) nur 4/5 zur Bestimmung gelangen.

Der Nachteil dieser Formel besteht darin, daß sie gleichbleibende Einwaagen (20 g Tinktur, 8 g Chloroform, 17 g Äther und 20 g Alkaloidextrakt) voraussetzt, die sich in praxi wegen der Flüchtigkeit der Lösungsmittel kaum mit analytischer Genauigkeit realisieren lassen. Um einer solchen Genauigkeit aber in vollem Umfange gerecht zu werden, wurde den eigenen Bestimmungen der Brechnußprä-

[†]) 3 T. 0,1% Bromkresolgrün + 1 T. 0,2% Methylrot, in Äthanol. Farbwechsel bei pH 5,1 von Grün (alkalisch) nach Weinrot (sauer).

parate folgende Formel zugrunde gelegt, die jede Einwaage von Fall zu Fall berücksichtigt.

$$V \cdot 0,007289 \cdot \frac{(L_1 + L_2)}{G \cdot A} \cdot 100 = \begin{array}{l} \text{Alkaloidgehalt} \\ \text{in 100 g Galenikum.} \end{array}$$

Hierbei bedeuten:

- G = Einwaage des Galenikums in g.
- L₁, L₂ = Einwaagen der Lösungsmittel Äther und Chloroform in g.
- A = Einwaage des Alkaloidauszugs in g.
- V = Verbrauch an 0,02 n Salzsäure in ml
(1 ml 0,02 n Salzsäure entspricht 7,289 mg Alkaloiden,
berechnet auf gleiche Teile Strychnin und Brucin). +)

Die tatsächlichen Einwaagen entsprachen dabei etwa den vom DAB.6 angegebenen Mengen.

Methode nach der Pharmacopoea Danica 1948

Nach der Vorschrift der Ph. Dan. 1948, die in allen Teilen genau befolgt wurde, lassen sich in den galenischen Brechnußzubereitungen analog der Bestimmung für Semen Strychni sowohl der Gehalt der Gesamtalkaloide als auch der Gehalt an Strychnin ermitteln. Dabei wird zunächst der Gesamtalkaloidgehalt in ähnlicher Weise wie nach dem DAB.6 bestimmt, anschließend das Brucin mittels Salpetersäure oxydativ zerstört und nach erneuter alkalischer Ausschüttelung die Titration des unzerstörten Strychnins durchgeführt. Aus der Differenz zwischen der bei der Gesamtalkaloidbestimmung und der bei der Strychninbestimmung verbrauchten Salzsäuremenge ergibt sich dann der Brucingehalt des Galenikums.

Während die Ph. Dan. 1948 der Berechnung des Gesamtalkaloidgehaltes das Molekulargewicht des Strychnins zugrunde legt, wurden die

+) Allen Berechnungen wurden die Atomgewichte nach dem Stand von 1958/59 (120) zugrunde gelegt. Das sich daraus ergebende mittlere Molekulargewicht von Strychnin (334,42) und Brucin (394,48) weicht mit 364,45 von dem im DAB.6 angegebenen (364,2) um 0,25 = 0,07% ab.

eigenen Analysenergebnisse nach der modifizierten Formel des DAB.6 (s. o.) errechnet, d.h. unter Berücksichtigung des mittleren Molekulargewichts von Strychnin und Brucin.

Die Berechnung nach dem DAB.6 entspricht jedoch nur dann dem wahren Gesamtalkaloidgehalt, wenn die Alkaloide Strychnin und Brucin genau zu gleichen Teilen in den Galenika vorliegen. Das ist aber, wie die Gehaltsbestimmung nach der Ph. Dan. 1948 ergab, bei den verwendeten Brechnußpräparaten nur mit einer gewissen Annäherung der Fall. Das Mischungsverhältnis von Strychnin (Mol.Gew. 334,42) zu Brucin (Mol.Gew. 394,48) beträgt im Extractum Strychni 45,6 : 54,4 und in der Tinctura Strychni fast genau umgekehrt 53,5 : 46,5. Berechnet man auf Grund der Analysenergebnisse nach der Ph. Dan. den wirklichen Gesamtalkaloidgehalt, so fällt dieser beim Extrakt verständlicherweise etwas höher, bei der Tinktur dagegen etwas niedriger aus als die mit dem mittleren Molekulargewicht berechneten Werte.

Wie der Vergleich in den Tabellen 7 und 8 zeigt, liegen die nach der Methode der Ph. Dan. gefundenen Strychnin-Werte etwas unter den nach der Methode von BRISEID JENSEN und BAERHEIM SVENDSEN bzw. nach der Methode von JENTZSCH ermittelten Werten. Diese Tatsache stimmt mit den Angaben von JENTZSCH (32) überein und beruht nach diesem Autor darauf, daß mit der oxydativen Zerstörung des Brucins auch eine Zerstörung von etwa 2% Strychnin verbunden ist, während Verluste dieser Art sowohl bei der adsorptionschromatographischen als auch bei der spektrophotometrischen Bestimmung ausgeschlossen sind.

Die Methode der Britischen Pharmakopöe, die das Strychnin nach demselben Prinzip wie die Ph. Dan. bestimmen läßt, wurde für die eigenen Untersuchungen deshalb nicht herangezogen, weil die damit erhaltenen Analysenergebnisse infolge Einschaltung eines wesentlich komplizierteren Ausschüttelungsvorganges eine größere Fehlerbreite haben als jene nach der Ph. Dan. (32).

Methode nach KUNTZE und HÄDICKE

Bereits 1937 veröffentlichten MERZ und FRANCK (121) eine adsorptionschromatographische Methode zur Gesamtalkaloidbestimmung in Extractum und Tinctura Strychni, während erst vor kurzem eine Arbeit von KUNTZE und HÄDICKE (100) erschien, die auf prinzipiell gleiche Weise den Gesamtalkaloidgehalt von Tinctura Strychni ermittelten. KUNTZE und HÄDICKE benutzten in Abweichung von MERZ und FRANCK als Adsorptionsmittel Aluminiumoxyd Woelm, basisch I, statt Aluminiumoxyd Merck, reinst, wasserfrei, und als Elutionsmittel 90%iges Äthanol an Stelle 70%igen Äthanols.

In den eigenen Untersuchungen wurden jeweils 10 g Tinktur direkt und der Extrakt - wie bei MERZ und FRANCK - in einer Lösung von 0,2 g in 10 ml 70%igem Äthanol chromatographiert und die Eluate alkalimetrisch bestimmt.

Das Bemerkenswerte an dieser Methode ist, daß mit ihr in den Galenika höhere Alkaloidwerte gefunden werden als bei den Bestimmungen nach dem DAB.6 bzw. der Ph. Dan. 1948. Zu diesem Ergebnis führten sowohl die Untersuchungen von KUNTZE und HÄDICKE als auch die eigenen. KUNTZE und HÄDICKE deuteten ihre Befunde dahingehend, daß die Arzneibuchbestimmungen die Alkaloide nicht quantitativ erfassen. Sie versuchten ihre Deutung durch die Angabe zu stützen, daß bei Anwendung der Arzneibuchverfahren auf Modellösungen von Strychninnitrat und Strychninbase ein Defizit von 1,2 - 2% und bei Anwendung auf verschiedene Brechnußtinkturen ein solches von 5,2 - 8,8% gegenüber der chromatographischen Methode aufträte.

Es ist klar, daß die von KUNTZE und HÄDICKE mitgeteilten Analyseergebnisse nur dann beweisend für ihre Auffassung gewesen wären, wenn das Defizit in den Modellösungen und in den Tinkturen von der gleichen Größenordnung gewesen wäre. Da das nicht der Fall war, sind ihre Untersuchungsergebnisse auch einer anderen Deutung fähig, nämlich der, daß die Arzneibuchmethoden den Alkaloidgehalt annähernd richtig erfassen, daß aber in den Brechnuß-Galenika basische Begleitstoffe enthalten sind, die bei diesem adsorptionschromatographischen Verfahren mit in Erscheinung treten.

Für die Richtigkeit dieser Deutung sprechen zunächst die Untersu-

chungen von GRAF (86) und SCOTT et al. (87). Nach diesen Autoren können bei der chromatographischen Alkaloidbestimmung pflanzlicher Zubereitungen unter Verwendung von Aluminiumoxyd als Adsorbens und Äthanol als Lösungs- und Elutionsmittel auch andere Pflanzeninhaltsstoffe (Alkalinitrate, Ammonsalze, Amine etc.) zusammen mit den Alkaloidbasen eluiert werden und dadurch die Resultate beeinflussen.

Auch in den eigenen Untersuchungen konnte die Anwesenheit alkalischer Begleitstoffe neben den Alkaloiden in den Eluaten durch eine Modifizierung des Verfahrens wahrscheinlich gemacht werden. Wurden nämlich die Eluate über die von KUNTZE und HÄDICKE vorgesehene Engung von 50 auf 10 ml hinausgehend bis zur Trockne eingengt und anschließend unter mehrmaliger Äthanolzugabe noch 2 Stunden auf dem Wasserbad erwärmt, so zeigten diese Eluate wesentlich niedrigere Basenwerte als die vorschriftsmäßig behandelten.

Dieser Befund ist kaum anders deutbar als durch die Annahme, daß neben den Alkaloiden noch andere basische Substanzen eluiert wurden, die bei der beschriebenen Behandlung flüchtig gingen oder sich partiell zersetzten.

Durch weitere Erwärmung der modifiziert behandelten Eluate im Trockenschrank bei einer Temperatur von 105-110°C, bei der sich die Reinalkaloide nicht zersetzen, wurden sogar ähnliche Alkaloidwerte erhalten wie nach der Methode des DAB.6.

Im einzelnen wurden für die galenischen Brechnußpräparate nach dieser Methode im Durchschnitt folgende Mehrwerte (absolut und in Prozent) gegenüber den Arzneibuchverfahren[†]) gefunden, die sich vermutlich auf basische Begleitstoffe der Alkaloide beziehen:

Für 100 g Extr. Strychni	1,96 g (13,8%)	bei vorschriftsmäßiger,
	1,22 g (8,6%)	bei modifizierter Eluatbehandlung.

Für 100 g Tinct. Strychni	39,4 mg (17,9%)	bei vorschriftsmäßiger,
	21,2 mg (9,6%)	bei modifizierter Eluatbehandlung.

[†]) Als Bezugswerte dienten die auf S. 65 angegebenen Mittelwerte für den Gesamtalkaloidgehalt.

Bei den nach dieser Methode durchgeführten eigenen Untersuchungen fiel außerdem auf, daß sich beim Eindampfen der wässrig-äthanolischen Eluate der Galenika auf dem Wasserbad bis fast zur Trockne ölarartige Substanzen von eigenartig aromatischem Geruch abschieden, die unter diesen Bedingungen nicht flüchtig waren und die die Eigenschaft hatten, sich in Äthanol zu lösen. Diese aus Tinctura Strychni einerseits und aus Extractum Strychni andererseits ausgeschiedenen Substanzen wiesen einen charakteristischen Unterschied auf: sie waren bei der Tinktur rot⁺), beim Extrakt dagegen gelb gefärbt.

Wurden die Eluate der Tinktur vollkommen zur Trockne gebracht und mit wenig Äthanol (90%) versetzt, so hinterblieb neben einer rotgefärbten Lösung ein weißer Rückstand, der in Wasser löslich war. Die in gleicher Weise behandelten Eluate des Extrakts ergaben dagegen eine klare, gelbe Lösung ohne Rückstand.

Methode nach GRAF

Dieses Verfahren wurde genau nach den Angaben des Autors ebenfalls zur Gesamtalkaloidbestimmung herangezogen. Im Gegensatz zu dem vorher geschilderten prinzipiell gleichen Verfahren wird hierbei jedoch statt Äthanol das schwächer polare Chloroform als Elutionsmittel verwendet. Ferner werden bei dieser Methode die alkoholischen Probelösungen vor dem Chromatographieren erst salzsauer eingedampft, dann mit 40%iger KOH versetzt und anschließend mit Aluminiumoxyd zur Trockne verrieben.

Mit dieser Methode wurden für den Gesamtalkaloidgehalt der Galenika gleiche Werte wie nach dem DAB-Verfahren erhalten; sie lagen durchschnittlich beim Extrakt und bei der Tinktur etwas höher als die Arzneibuchwerte.

Das von GRAF an gleicher Stelle (86) angegebene Verfahren zur getrennten Bestimmung von Strychnin und Brucin, bei dem die Aktivität

⁺) Diese Beobachtung stimmt mit den Angaben von SCHINDLER (101) überein.

des verwendeten Aluminiumoxyds bekannt sein und in einem Vorversuch ermittelt werden muß, blieb deshalb unberücksichtigt, weil es infolge des zu geringen Leerintervalls zwischen der Strychnin- und Brucinfraktion nur schlecht reproduzierbare Werte lieferte.

Auch das Verfahren von FISCHER und GHARBO (58), wonach eine getrennte Bestimmung der adsorptionschromatographisch isolierten Alkaloide durch sukzessive Elution mittels Trichloräthylen, acetonhaltigem Tetrachlorkohlenstoff und Methanol über Aluminiumoxyd Woelm, neutral IV, möglich sein soll, mußte aufgegeben werden, da die gefundenen Analysenwerte zu stark streuten.

Methode nach BRISEID JENSEN und BAERHEIM SVENDSEN

Mit Hilfe dieser Methode, der das Prinzip der Verteilungschromatographie zugrunde liegt, können Strychnin und Brucin getrennt und anschließend einzeln bestimmt werden. Die Originalarbeit beschränkt sich zwar auf die Bestimmung der Alkaloide in Samen Strychni, bei analoger Anwendung eignete sich das Verfahren aber auch für die Untersuchung der galenischen Brechnußzubereitungen.

Bei diesem Verfahren werden die zunächst nach klassischer Ausschüttelungsmethode (Stas-Otto) aus den Galenika isolierten Alkaloide mittels Phosphatpuffer (V5m, pH 7) als mobiler Phase, Kieselgur als Stützphase sowie Äther und Chloroform als mobiler Phase getrennt. Der dadurch erzielte Trenneffekt ist wegen des großen alkaloidfreien Intervalls als sehr gut zu bezeichnen⁺). Die anschließend alkalimetrisch bestimmten Strychnin- und Brucinwerte zeigen nur geringe Streuungen.

Als Ausgangsmengen für die Untersuchung der Galenika dienten etwa 300,0g Tinktur und 6,000g Extrakt, genau gewogen. Die Gesamtalkaloide wurden in Anlehnung an die DAB-Methode jeweils mit einem

⁺) Ein gleich guter Trenneffekt läßt sich nach eigenen Versuchen mit Aluminiumoxyd Woelm, basisch III, als kombinierter Stütz- und stationärer Phase sowie wassergesättigtem Äther und Chloroform als mobiler Phase erzielen.

Gemisch von 200 g Äther und 100 g Chloroform extrahiert. Aus 250 g des Alkaloidextrakts (= 5/6 der Ausgangsmenge des Galenikums) wurden die Lösungsmittel abdestilliert. Die als Rückstand verbliebenen Alkaloide wurden in 25 ml Chloroform gelöst und mit Äther auf 50,00 ml aufgefüllt. In je 2 ml dieser Chloroform-Äther-Lösung (entsprechend etwa 10 g Tinktur bzw. 0,2 g Extrakt) wurde entweder direkt der Gesamtalkaloidgehalt oder nach verteilungschromatographischer Trennung mit erst 120 ml Äther und dann 30 ml Chloroform der Gehalt an Strychnin bzw. Brucin bestimmt. Zur Titration des Strychnins wurden die 120 ml Äthereluat auf 10 ml eingengt; zur Titration des im Chloroformeluat befindlichen Brucins wurde das Chloroform abdestilliert und der Rückstand in 10 ml Äther aufgenommen. Beide Alkaloide wurden in der ätherischen Lösung mit 0,02 n Salzsäure und Bromkresolgrün (B.P. 1948) als Indikator titriert.

Methode nach JENTZSCH

Eine spektrophotometrische Gehaltsbestimmung beider Komponenten eines Zweistoffsystems ist dann möglich, wenn die Absorptionskurven der Komponenten geeignete Merkmale aufweisen, die einer Berechnung zugrunde gelegt werden können (122). Diese Bedingung wird im Falle von Strychnin-Brucin-Mischungen besonders günstig erfüllt, da sich die Absorptionskurven von Strychnin und Brucin stets bei zwei definierten Wellenlängen schneiden und außerdem das Brucinspektrum ein Maximum besitzt, in dessen Bereich das Strychnin eine nur ganz geringe Lichtabsorption zeigt (s. Abb. 12).

Für die Berechnung des Alkaloidgehaltes genügen in diesem Fall Absorptionsmessungen bei zwei Wellenlängen, nämlich bei derjenigen des einen Kurvenschnittpunkts (λ_1) und bei derjenigen des betreffenden Brucinmaximums (λ_2). Aus den mit Hilfe von Reinalkaloidlösungen bekannter Konzentration bei diesen Wellenlängen experimentell ermittelten prozentualen Extinktionskoeffizienten von Brucin ($B^E\%$) und Strychnin ($S^E\%$) einerseits und aus den für die Probelösungen bei denselben Wellenlängen gefundenen Extinktionen ($E\lambda_1$ und $E\lambda_2$) andererseits - Schichtdicke jeweils $d = 1 \text{ cm}$ -

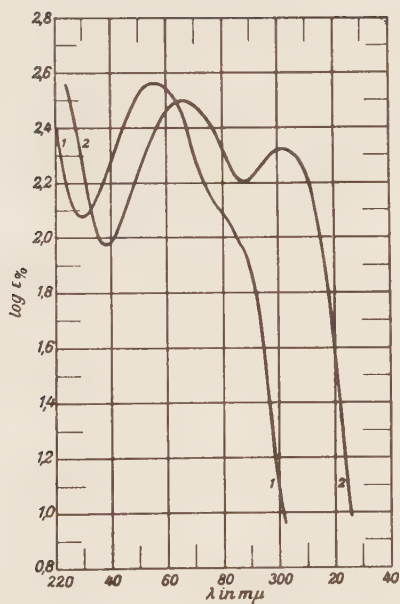


Abb. 12. Absorptionsspektren von Strychnin (1) und Brucin (2) in 0,1n Salzsäure. (nach JENTZSCH)

ergeben sich dann nach MAYER und HALAWA (123) der Gewichtsprozentsatz x von Brucin im Alkaloidgemisch aus der Formel (I), die Brucinkonzentration c_B im Mittel aus den Formeln (II) und (III) und die Strychninkonzentration c_S aus der Formel (IV).

$$x = \frac{\left(\frac{E_{\lambda_2}}{E_{\lambda_1}} \cdot S^E \%_{\lambda_1} - S^E \%_{\lambda_2} \right) \cdot 100}{B^E \%_{\lambda_2} - S^E \%_{\lambda_2}} \quad (I)$$

$$c_B = \frac{E_{\lambda_1} \cdot x}{100 \cdot B^E \%_{\lambda_1}} \quad (II)$$

$$c_B = \frac{E_{\lambda_2}}{B^E \%_{\lambda_2} - S^E \%_{\lambda_2} + \frac{100 \cdot S^E \%_{\lambda_2}}{x}} \quad (III)$$

$$c_S = \frac{c_B (100 - x)}{x} \quad (IV)$$

Nach der von JENTZSCH veröffentlichten Methode, die bei den eigenen Untersuchungen genau befolgt wurde, lassen sich in gleicher Weise auch in galenischen Brechnußpräparaten die Alkaloide Strychnin und Brucin mit großer Genauigkeit getrennt bestimmen, wenn sie ohne störende Begleitstoffe aus den Galenika extrahiert werden können. Dies gelingt sowohl bei Extractum als auch bei Tinctura Strychni durch vorausgehende Erwärmung der Galenika mit verdünnter Schwefelsäure und anschließende Ausschüttelung nach dem DAB.6-Verfahren. Die Lösungsmittel der Alkaloidextrakte werden abdestilliert und die Alkaloide mit 0,1n Salzsäure so weit verdünnt, bis ihr Misch-

spektrum bei den betreffenden Wellenlängen (s.o.) optimale Meßwerte zeigt.

Diesen Untersuchungen mußte bedingungsgemäß eine Bestimmung der prozentualen Extinktionskoeffizienten von Strychnin und Brucin in ebenfalls 0,1n Salzsäure vorausgehen; denn diese Werte sind vom jeweils benutzten Meßgerät abhängig und können deshalb nicht ohne weiteres aus der Literatur übernommen werden (88).

Die mit Hilfe des für alle Untersuchungen verwendeten Beckman-Spektralphotometers, Modell DU, bestimmten Absorptionskurven der Lösungen von Brucin bzw. Strychnin in 0,1n Salzsäure[†]) - die günstigste Konzentration lag bei 15 γ/ml - schnitten sich bei $\lambda = 262,5 \text{ m}\mu$; das für Brucin ermittelte Maximum lag bei $\lambda = 300 \text{ m}\mu$. Bei diesen auch von JENTZSCH genannten Wellenlängen wurden folgende prozentuale Extinktionskoeffizienten gefunden:

$$\begin{aligned} B\epsilon_{\% 262,5} &= S\epsilon_{\% 262,5} = 315,2 \text{ (317)} \\ B\epsilon_{\% 300} &= 214,5 \text{ (216)} \\ S\epsilon_{\% 300} &= 4,3 \text{ (10)} . \end{aligned}$$

In Klammern () die Angaben von JENTZSCH.

Die unter Zugrundelegung dieser Werte nach obigen Formeln berechneten spektrophotometrischen Analysenergebnisse stimmten, wie die Tabellen 7 und 8 zeigen, mit den nach anderen Trennungsmethoden (Ph. Dan. 1948, BRISEID JENSEN u. BAERHEIM SVENDSEM) maßanalytisch gefundenen Resultaten gut überein.

[†]) Es wurden die Handelspräparate "Strychninum purum cryst. Merck" und "Brucinum p.a. (+ 2 H₂O) Merck" verwendet; das Brucin erst nach restloser Kristallwasserabgabe durch Trocknung bei 105° C.

Bei den eigenen Untersuchungen wurde festgestellt, daß die Spektren von Strychnin und Brucin in 0,1n Salzsäure nach mehr als zweistündigem Stehen der Lösungen eine deutliche Zunahme der Extinktionswerte ab $\lambda < 262 \text{ m}\mu$ zeigten. Sämtliche Messungen wurden deshalb unmittelbar nach der Bereitung der Untersuchungslösungen vorgenommen.

Anmerkung zu den Tabellen 7 und 8

Spalte 1: Die Werte geben den Gesamtalkaloidgehalt, berechnet auf das mittlere Molekulargew. von Strychnin und Brucin, an.

Spalte 2: wie Spalte 1.

Spalte 3: Die Brucinwerte wurden aus der Differenz zwischen dem Verbrauch an 0,02n HCl bei der Gesamtalkaloidbestimmung und dem bei der Strychninbestimmung errechnet. Die Summen der einzelnen Brucin- und Strychninwerte sind den Gesamtalkaloidwerten in Spalte 2 gegenübergestellt. Auf Grund der unterschiedlichen Molekulargewichte von Brucin (394,48) und Strychnin (334,42) mußte der größere Brucinanteil des Extrakts (54,4%) höhere und der größere Strychninanteil der Tinktur (53,5%) niedrigere Werte für den Gesamtalkaloidgehalt ergeben als bei der Berechnung desselben unter Zugrundelegung des mittleren Molekulargewichts (Spalte 2).

Spalte 4: wie Spalte 1.

Spalte 5: wie Spalte 1. In Abänderung der Originalvorschrift wurden die Eluate stärker eingedampft.

Spalte 6: wie Spalte 1.

Spalte 7: wie Spalte 1.

Spalte 8: Die Gesamtalkaloidwerte wurden aus der Summe der getrennt bestimmten Strychnin- und Brucinwerte errechnet. Sie zeigen von den in Spalte 7 angegebenen Werten analoge Abweichungen wie die Werte in Spalte 3 von denen in Spalte 2 (s. oben).

Spalte 9: wie Spalte 8, Satz 1.

Die in den Spalten 3, 8 und 9 neben den Mittelwerten von Strychnin und Brucin in Klammern () angegebenen Prozentzahlen bedeuten den jeweils gefundenen mittleren Anteil der Alkaloide am Alkaloidgemisch.

Tabelle 7. Quantitative Alkaloidbestimmungen von Extracum Strychni.
(Alkaloidgehalt in g pro 100 g)

Alkaloide	Methode nach dem DAB.6	Methode nach der Pharm. Danica 48		Methode nach KUNTZE u. HADICKE		Methode nach GRAF	Methode nach JENSEN u. SVENDSEN		Methode nach JENTZSCH
		Gesamtb.	Einzelb.	original	modifiz.		Gesamtb.	Einzelb.	
Strychnin + Brucin	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	14,07	14,11	14,21	16,19	15,55	14,32	14,09	14,38	14,09
	14,02	14,09	14,17	16,02	15,30	14,26	14,12	14,21	14,22
	14,15	13,95	14,06	16,13	15,46	14,20	14,16	14,08	14,13
	14,08	14,13	14,22	16,09	15,38	14,18	14,20	14,14	14,26
	14,12	13,98	14,10	16,29	15,32	14,35	14,04	14,31	
Strychnin	14,22	14,17	14,28	16,23	15,52	14,31	14,19	14,40	
	14,11	14,07	14,17	16,16	15,42	14,27	14,13	14,25	14,18
	-	-	6,51	-	-	-	-	6,67	6,49
			6,62	-	-	-		6,75	6,44
			6,34	-	-	-		6,36	6,55
			6,60	-	-	-		6,49	6,56
Brucin			6,29	-	-	-		6,70	
			6,47	-	-	-		6,64	
			6,47	-	-	-		6,60	6,51
			(45,6%)	-	-	-		(46,3%)	(45,9%)
	-	-	7,70	-	-	-	-	7,71	7,60
			7,55	-	-	-		7,46	7,78
Brucin			7,72	-	-	-		7,72	7,58
			7,62	-	-	-		7,65	7,70
			7,81	-	-	-		7,61	
			7,81	-	-	-		7,76	
	-	-	7,70	-	-	-	-	7,65	7,67
			(54,4%)	-	-	-		(53,7%)	(54,1%)

Tabelle 8. Quantitative Alkaloidbestimmungen von Tinctura Strychni.
(Alkaloidgehalt in mg pro 100 g)

Alkaloide	Methode nach dem DAB.6		Methode nach der Pharm. Danica 48		Methode nach KUNTZE u. HÄDICKE		Methode nach GRAF	Methode nach JENSEN u. SVENDSEN		Methode nach JEWETZSCH
	1	2	Gesamtb.	Einzelb.	original	modifiz.	6	Gesamtb.	Einzelb.	
Strychnin + Brucin	224,9	220,1	218,6	258,5	238,7	223,8	221,2	223,3	221,2	216,4
	220,8	221,8	220,8	257,4	242,9	221,9	220,6	221,4	220,6	215,6
	221,5	220,7	219,3	260,4	240,8	222,5	221,5	222,9	221,5	219,6
	224,1	223,2	222,1	262,3	239,9	225,1	218,0	221,0	218,0	218,8
	219,6	219,1	217,9	259,9	243,6	224,8	222,1	221,7	222,1	
	221,1	220,6	219,1	257,8	241,4	224,0	219,8	224,2	219,8	
Strychnin	222,0	220,9	219,6	259,4	241,2	223,5	220,5	222,4	220,5	217,6
			118,7						118,4	116,2
			116,4						120,7	117,4
	-	-	118,0		-	-		-	119,0	119,0
			117,9						117,9	117,3
			115,9						120,8	
Brucin			118,3						120,3	
			117,5						119,5	117,5
			(53,5%)						(54,2%)	(54,0%)
			99,9						102,8	100,2
			104,4						99,9	98,2
	-	-	101,3		-	-		-	102,5	100,6
			104,2						100,1	101,5
			102,0						101,3	
			100,8						99,5	
			102,1						101,0	100,1
			(46,5%)						(45,8%)	(46,0%)

Wie aus Tab. 7 und 8 hervorgeht, ergaben alle durchgeführten Bestimmungsmethoden - außer derjenigen nach KUNTZE und HÄDICKE - gut übereinstimmende Werte für den Gesamtalkaloidgehalt. Auch die für die Einzelalkaloide der Galenika, Strychnin und Brucin, aufgefundenen Werte wiesen nur geringe, innerhalb der Fehlergrenzen liegende Abweichungen voneinander auf.

Für die pharmakologischen Untersuchungen konnten deshalb den galenischen Brechnußzubereitungen bezüglich ihres Alkaloidgehaltes die Werte zugrunde gelegt werden, die aus dem nach der DAB.6-Methode gefundenen Säureäquivalent unter Berücksichtigung der nach anderen Verfahren durchschnittlich ermittelten prozentualen Anteile von Strychnin und Brucin berechnet wurden. Die so erhaltenen Zahlenwerte für Extractum und Tinctura Strychni, die die Vergleichsbasis zu den später beschriebenen Reinalkaloidlösungen gleicher Konzentration bildeten, sind nachstehend angegeben.

1. Extractum Strychni

Mittlerer Alkaloidanteil: 46% Strychnin, 54% Brucin.
Strychningehalt in 100 g: 6,53 g.
Brucingehalt in 100 g: 7,67 g.

2. Tinctura Strychni

Mittlerer Alkaloidanteil: 54% Strychnin, 46% Brucin.
Strychningehalt in 100 g: 119 mg.
Brucingehalt in 100 g: 101 mg.

Es war interessant und für die vorliegende Arbeit sehr günstig, daß der Alkaloidschwund in Extractum und Tinctura Strychni im Verlauf eines Jahres höchstens 1-2% betrug und deshalb vernachlässigt werden konnte (s. hierzu S. 19).

b. Chlorogensäure

Bei der qualitativen papierchromatographischen Auswertung der Galenika und der alkoholischen Vergleichslösungen von reiner Chlorogensäure konnte eine gute Relation zwischen der aufgetragenen Startmenge und der Fleckengröße des im filtrierte UV-Licht sichtbaren Fluoreszenzflecks der entwickelten Chlorogensäure festgestellt werden. Auf Grund dieser Abhängigkeit war es möglich, mit Hilfe der Papierchromatographie eine annähernd genaue Bestimmung des in den benutzten Brechnußpräparaten vorliegenden Gehaltes an Chlorogensäure durchzuführen.

Zu diesem Zweck wurden auf die Startlinie desselben Chromatographierbogens (Schleicher & Schüll Nr. 2043 b mgl) im Abstand von jeweils 2,5 cm aufgetragen:

0,04 ml Tinctura Strychni, 0,04 ml Sol. Extr. Strychni und abgestufte Mengen einer 0,1%igen Vergleichslösung von "Chlorogensäure puriss., C. Roth" in Spir. dil., die etwa dem Chlorogensäuregehalt der Galenika entsprachen (vgl. S. 38) .

Die Entwicklung dieser Proben erfolgte ohne Klimatisation mit dem Fließmittel Nr. 1 (n-Butanol/Eisessig/Wasser 4 : 1 : 1). Auf den getrockneten Papieren wurden unter der Analysenquarzlampe die Umriss der sich deutlich abhebenden blaugrünen Fluoreszenzflecke der Chlorogensäure markiert. Im Anschluß daran wurden die Papiere noch mit Phosphormolybdänsäure-Reagens besprüht und in eine Ammoniakatmosphäre gebracht, wodurch die zuvor markierten Chlorogensäureflecke auch im sichtbaren Licht eine kräftige Blaugrünfärbung annahmen.

Die Bestimmung des Chlorogensäuregehaltes erfolgte durch planimetrische Auswertung der Fleckengrößen mit Hilfe von transparentem Millimeterpapier. Dabei wurden nur die im filtrierte UV-Licht vorgenommenen Markierungen berücksichtigt, da die Fluoreszenzflecke gegenüber den Farbflecken schärfere Umriss aufwiesen und somit eine sicherere Begrenzung ermöglichten.

Die Fleckenausmaße der verschiedenen Ausgangsmengen reiner Chlorogensäure (270 mm^2 bei 10 γ , 345 mm^2 bei 20 γ , 400 mm^2 bei 30 γ und

480 mm² bei 40 γ) wurden in ein Koordinatensystem eingetragen. Die Verbindungslinie dieser Punkte ergab eine Gerade (s. Abb. 13).

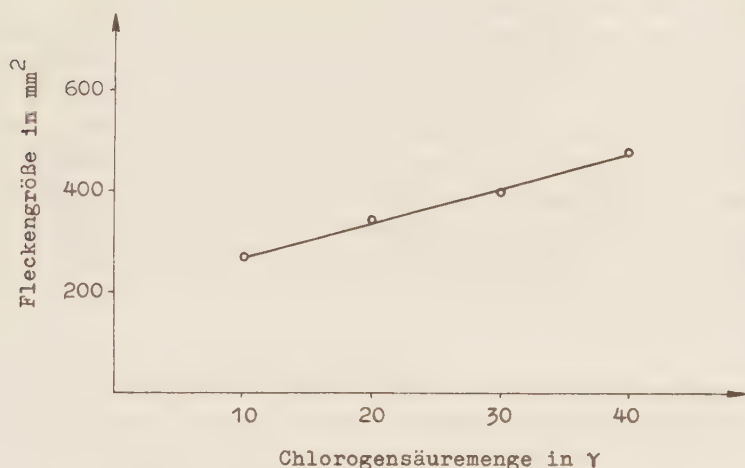


Abb. 13. Eichkurve zur Bestimmung des Chlorogensäuregehalts durch planimetrische Auswertung von Papierchromatogrammen.

Anhand dieser Eichkurve konnte aus den bei den Galenika gefundenen Chlorogensäureflecken der Gehalt des jeweiligen Galenikums an Chlorogensäure ermittelt werden. Auf diese Weise wurden für 0,04 ml Sol. Extr. Strychni 36 γ (Fleckengröße: 470 mm²) und für 0,04 ml Tinctura Strychni 28 γ (Fleckengröße: 410 mm²) an Chlorogensäure gefunden. Umgerechnet enthielten somit 100 ml Sol. Extr. Strychni 90 mg und 100 ml Tinctura Strychni 70 mg Chlorogensäure. Unter Berücksichtigung des spezifischen Gewichts der galenischen Testlösungen (rund 0,9) waren demnach in der Sol. Extr. Strychni 0,1% und in der Tinctura Strychni 0,08% Chlorogensäure enthalten. Der absolute Chlorogensäuregehalt von Extractum Strychni siccum betrug 6,45% ⁺).

⁺) Berechnet durch Multiplikation des für Sol. Extr. Strychni gefundenen Wertes mit dem Faktor 64,5 (siehe hierzu Anm. auf S. 29).

c. Loganinsäure

Der Gehalt der galenischen Brechnußpräparate an Loganinsäure wurde ebenfalls papierchromatographisch analog dem Gehalt an Chlorogensäure ermittelt; denn auch hier zeigte sich ein hinreichend guter Zusammenhang zwischen Fleckengröße und Startmenge der betreffenden Substanzen. Da jedoch bei dieser Bestimmung statt reiner Loganinsäure nur das in gleicher Weise reagierende Loganin als Vergleichssubstanz zur Verfügung stand, mußte der Auswertung die bereits von JAMINET (12) aufgestellte Hypothese zugrunde gelegt werden, daß gleiche Mengen von Loganinsäure und Loganin nach übereinstimmender Entwicklung auch dieselbe Fleckengröße auf dem Papierchromatogramm ergeben.

Als Proben wurden Startmengen von je 0,04 ml Sol. Extr. Strychni und Tinctura Strychni und von 0,04 - 0,10 ml 0,1%iger äthanolischer Loganinlösung auf die Startlinie desselben Chromatographierbogens (Schleicher & Schüll Nr. 2043 b) im Abstand von je 2,5 cm aufgetragen und mit dem Fließmittel Nr. 1 ohne vorherige Klimatisation entwickelt. Die getrockneten Papiere wurden mit 2 n äthanolischer Schwefelsäure besprüht und anschließend im Trockenschrank bei 100°C 2-3 Minuten erwärmt. Nach dieser Zeit erschienen auf dem Papier die roten Farbflecke des Loganins und der Loganinsäure (vgl. S. 44), deren Umrisse sofort markiert wurden, da mit dem bald danach einsetzenden Verblassen auch die Begrenzungsschärfe der Farbflecke nachläßt.

Die mittleren Fleckengrößen des Loganins betrugen 180 mm² bei 40 γ, 235 mm² bei 60 γ, 270 mm² bei 80 γ und 320 mm² bei 100 γ.

Die Verbindungslinie der in ein Koordinatensystem eingetragenen Fleckenausmaße (Eichkurve) ergab, ähnlich wie bei der Chlorogensäure, nahezu eine Gerade (s. Abb. 14).

Die bei den Galenika aufgetretenen gleichen Farbflecke der Loganinsäure hatten im Mittel folgende Ausmaße: 245 mm² bei 0,04 ml Sol. Extr. Strychni und 285 mm² bei 0,04 ml Tinctura Strychni.

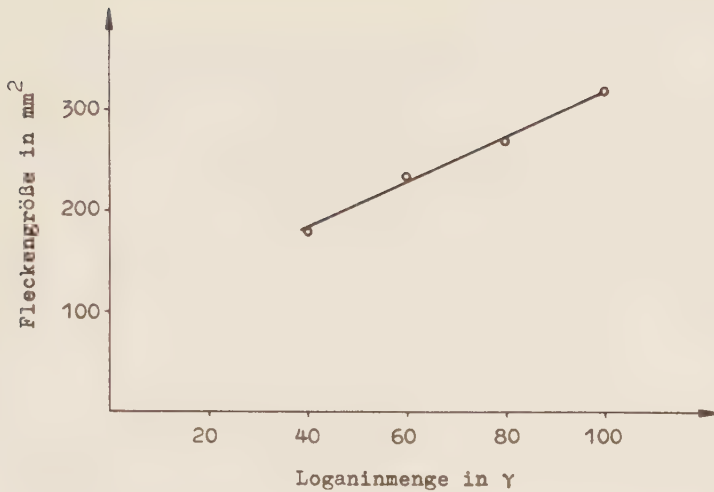


Abb. 14. Eichkurve zur Bestimmung des Loganinsäure- bzw. Loganingehalts durch planimetrische Auswertung von Papierchromatogrammen.

Gemessen an der "Loganinkurve", entsprach die Größe des Farbflecks von der Extraktlösung 68 γ und die Größe des Farbflecks von der Tinktur 85 γ Loganin bzw. Loganinsäure. Unter Berücksichtigung des spezifischen Gewichts der galenischen Testlösungen ergab sich für die Sol. Extr. Strychni ein Gehalt von 0,19% und für die Tinctura Strychni ein Gehalt von rund 0,24% Loganinsäure. Der Loganinsäuregehalt von Extractum Strychni siccum betrug demnach 12,26%.

d. Gesamtstickstoff

Diese Untersuchung hatte zum Ziel, aus der Differenz zwischen dem gesamten Stickstoffgehalt der Galenika und dem Stickstoffgehalt der in den Galenika enthaltenen Alkaloide Strychnin und Brucin auf die Menge der nichtalkaloidischen stickstoffhaltigen Inhaltsstoffe von Extractum und Tinctura Strychni zu schließen.

Zu diesem Zweck mußten zwei Voraussetzungen erfüllt werden: Erstens mußte der Alkaloidgehalt der Galenika bekannt sein, und zweitens mußte es analytisch möglich sein, den Stickstoffgehalt der BrechnuBalkaloide quantitativ zu erfassen.

Der ersten Bedingung genügte die vorausgegangene quantitative Alkaloidanalyse. Zur Erfüllung der zweiten Bedingung war es jedoch erforderlich, erst eine für den vorliegenden Fall brauchbare Methode auszuarbeiten, da das im allgemeinen bei der Bestimmung des Stickstoffs in Pflanzenteilen und Pflanzenextrakten angewandte Kjeldahl-Verfahren (124) auf Grund der chemischen Struktur der BrechnuBalkaloide hier nicht ohne weiteres anwendbar und auch keine andere, erprobte Methode für die Stickstoffanalyse von Strychnin und Brucin der Literatur zu entnehmen war.

Die eigenen Versuche hierüber lehnten sich im Prinzip an das Kjeldahl-Verfahren an, entscheidend variiert wurde dabei lediglich der Aufschluß der Substanzproben.

Als Testsubstanzen dienten die handelsüblichen Alkaloidbasen⁺), als Titrationslösung wurde 0,02 n Salzsäure benutzt, als Indikator Methylrot-Methylenblau-Lösung nach TASHIRO. Die Destillationen wurden in dem bekannten Apparat nach PARNAS durchgeführt.

Wie erwartet ergaben die üblichen Aufschlüsse durchweg Stickstoffdefizite; sie betrugen 10 - 30 % der N-Sollwerte von Strychnin bzw. Brucin.

⁺) Strychninum purum cryst. Merck ($C_{21}H_{22}N_2O_2$; Mol.Gew. 334,42; Stickstoffgehalt 8,377%; geprüfter Schmelzpunkt $268^{\circ}C$) und Brucinum p.a. (+ 2 H_2O) Merck, kristallwasserfrei getrocknet, ($C_{23}H_{26}N_2O_4$; Mol.Gew. 394,48; Stickstoffgehalt 7,102%; geprüfter Schmelzpunkt $178,5^{\circ}C$).

Nur das Aufschlußverfahren nach FRIEDRICH (125), bei dem die Substanz vor der Zerstörung durch Schwefelsäure mit Jodwasserstoffsäure behandelt wird, führte sowohl bei Strychnin als auch bei Brucin zu gut stimmenden, reproduzierbaren Ergebnissen, die in den Tabellen 9 und 10 (S. 73) wiedergegeben sind.

Vor dem anschließend in gleicher Weise durchgeführten Aufschluß der Galenika mußte zunächst der Alkaloidstickstoffgehalt von Extractum und Tinctura Strychni berechnet werden. Diese Berechnung diente erstens dazu, die Untersuchungsproben so zu dosieren, daß ein den Modellversuchen größtmäßig entsprechender Alkaloidstickstoffgehalt resultierte, und zweitens dazu, die Vergleichsbasis zum gefundenen Gesamtstickstoffgehalt zu schaffen.

Auf Grund der quantitativen Analyse (s. S. 65) ergaben sich für die Galenika folgende Alkaloidstickstoffwerte:

1. Extractum Strychni:

100 g	enthielten	7,67 g Brucin	=	0,545 g N
		6,53 g Strychnin	=	0,547 g N
		insgesamt:		1,092 g N .

2. Tinctura Strychni:

100 g	enthielten	0,101 g Brucin	=	7,17 mg N
		0,119 g Strychnin	=	9,97 mg N
		insgesamt:		17,14 mg N .

Der auf die Alkaloide bezogene Stickstoffanteil der Galenika betrug demnach bei Extr. Strychni 1,092% und bei Tinct. Strychni 0,1714%. Daraus errechneten sich ca. 300 mg Extrakt und ca. 20 g Tinktur als entsprechende Bestimmungsmengen.

Der Aufschluß der Galenika in Anlehnung an die Methode nach FRIEDRICH (loc. cit.) wurde im einzelnen wie folgt ausgeführt:

Etwa 300,0 mg Extractum Strychni wurden genau gewogen und in einem Kjeldahl-Kolben von 100 ml Fassungsvermögen mit einigen Körnchen roten Phosphors und 2 ml Jodwasserstoffsäure ($d = 1,70$) versetzt. Der Kolben wurde auf dem Veraschungsgestell etwa 1/2 Stunde lang vorsichtig erhitzt, daß die Jodwasserstoffsäure ruhig kochte, und dann unter Abspülen des inneren Kolbenhalses zur Hälfte mit Wasser gefüllt. Nach Zusatz von 3 ml konzentrierter Schwefelsäure wurde der Kolben auf dem Veraschungsgestell stark erhitzt und der Inhalt zum lebhaften Sieden gebracht. Dabei destillierten zuerst Wasser und Jodwasserstoffsäure, dann Jodwasserstoffsäure und schließlich Jod ab. - Es erwies sich für ein rasches Vertreiben der Jodwasserstoffsäure als vorteilhaft, den Kolben noch ein zweites Mal mit etwa 30 ml Wasser zu beschicken und entsprechend stark zu erhitzen. - Sobald nur noch geringfügige Mengen Jod an der Halswandung haften, wurde der Kolben vom Gestell genommen und zu der kochenden Schwefelsäure etwa 0,5 g Kaliumsulfat und etwa 0,1 g Quecksilberacetat gefügt. Danach wurde die Veraschung des Extrakts bis zum Klarwerden der Lösung bzw. 30 - 60 Minuten darüber hinaus fortgesetzt. Die Alkalisierung der aufgeschlossenen Substanz im Destillationsapparat nach PARNAS erfolgte mit 30%iger Natronlauge mit einem Zusatz von 7% Natriumthiosulfat.

Von der Tinctura Strychni wurden Versuchsmengen von etwa 20,00 g genau in 100 ml - Kjeldahl-Kolben eingewogen und entweder sofort unter Zusatz von 2 ml Jodwasserstoffsäure eingedampft oder erst salzsauer eingedampft und dann mit ebensoviel Jodwasserstoffsäure versetzt. Die Weiterbehandlung erfolgte in beiden Fällen, auch hinsichtlich der Reagensmengen, genau wie beim Aufschluß des Extrakts.

Die unterschiedliche Anfangsbehandlung der Tinkturenproben hatte auf die Analysenergebnisse keinen Einfluß.

Die für Extractum und Tinctura Strychni mit dieser Bestimmungsmethode gefundenen gut reproduzierbaren Stickstoffwerte sind aus den Tabellen 11 und 12 ersichtlich.

Danach betrug der mittlere Gesamtstickstoffgehalt von Extractum Strychni 1,835% und von Tinctura Strychni 0,272% ; er war im Durchschnitt beim Extrakt um 68,03% und bei der Tinktur um 58,71% höher als der für die Galenika jeweils berechnete Alkaloidstickstoffgehalt. Dieser sogenannte "Stickstoffmehrgehalt" (Differenz zwischen dem Gehalt an Gesamtstickstoff und Alkaloid - N) war der Summe aller in den Brechnußpräparaten vorliegenden nichtalkaloidischen Stickstoffverbindungen zuzuschreiben.

Tabelle 9

Bestimmung des Stickstoffgehalts von Strychninbase

Präparat: Strychninum purum MERCK,
Mol.Gew. 334,423; N (theor.) 8,377 %

Einwaage mg	Verbrauch 0,02n HCl ml	Gefundener Stickstoffgehalt	
		ber. auf die Einwaage	ber. auf den theor. Wert
51,2	15,33	8,386 %	100,10 %
50,6	15,13	8,375 %	99,96 %
50,1	14,77	8,259 %	98,59 %
49,6	14,70	8,305 %	99,12 %
50,2	15,02	8,383 %	100,06 %
Mittelwerte:		8,341 %	99,57 %

Tabelle 10

Bestimmung des Stickstoffgehalts von Brucinbase

Präparat: Brucinum p. a. (+ 2 H₂O) MERCK,
wasserfrei getrocknet;
Mol.Gew. 394,477; N (theor.) 7,102 %

Einwaage mg	Verbrauch 0,02n HCl ml	Gefundener Stickstoffgehalt	
		ber. auf die Einwaage	ber. auf den theor. Wert
50,0	12,50	7,002 %	98,59 %
50,2	12,70	7,087 %	99,79 %
50,4	12,69	7,053 %	99,31 %
50,3	12,60	7,018 %	98,81 %
49,9	12,43	6,981 %	98,30 %
Mittelwerte:		7,028 %	98,96 %

Tabelle 11

Bestimmung des Gesamtstickstoffgehalts von Extractum Strychni

Alkaloidgehalt: 6,53% Strychnin, 7,67% Brucin
Stickstoffgehalt, ber. auf beide Alkaloide: 1,092%

Einwaage	Berechneter Alkaloid-N	Verbrauch 0,02n HCl	Gefundener Gesamt-N	Stickstoff-mehrgehalt
mg	mg	ml	mg	%
299,7	3,273	19,71	5,523	1,843
299,9	3,275	19,77	5,538	1,847
300,2	3,278	19,71	5,522	1,839
300,3	3,279	19,37	5,427	1,807
300,0	3,276	19,58	5,484	1,828
300,2	3,278	19,77	5,538	1,845
Mittelwerte:				1,835
				68,03

Tabelle 12

Bestimmung des Gesamtstickstoffgehalts von Tinctura Strychni

Alkaloidgehalt: 0,119% Strychnin, 0,101% Brucin
Stickstoffgehalt, ber. auf beide Alkaloide: 0,1714%

Einwaage	Berechneter Alkaloid-N	Verbrauch 0,02n HCl	Gefundener Gesamt-N	Stickstoff-mehrgehalt
mg	mg	ml	mg	%
a) 20,09	3,443	19,50	5,464	0,2720
20,06	3,438	19,47	5,454	0,2719
20,09	3,443	19,43	5,444	0,2710
b) 20,04	3,435	19,57	5,483	0,2736
20,09	3,443	19,39	5,433	0,2704
20,16	3,455	19,65	5,506	0,2731
Mittelwerte:				0,2720
				58,71

Anmerkung: a) Proben wurden sofort mit Jodwasserstoffsäure versetzt.
b) Proben wurden erst salzsauer eingedampft und dann mit Jodwasserstoffsäure versetzt.

3. Unterschiede in der Zusammensetzung von Extractum und Tinctura Strychni

Die auf Grund der ausgeführten qualitativen und quantitativen Analysen sich ergebenden Unterschiede in der Zusammensetzung von Extractum und Tinctura Strychni werden im folgenden vergleichend betrachtet.

Qualitative Unterschiede der Galenika

Farbe

Eine auf den gleichen Alkaloidgehalt der Tinktur eingestellte Lösung von Extractum Strychni in Spir. dil. zeigte eine helle grünlichgelbe, die unverdünnte Tinktur dagegen eine dunkelgelbe Farbe. Durch die papierchromatographische und säulenchromatographische Untersuchung der Galenika konnte wahrscheinlich gemacht werden, daß der Farbcharakter der Galenika mit durch Flavonoide bestimmt wird, die in der Tinktur reichlicher vorhanden sind als im Extrakt.

Absorptionskurven

Die hinsichtlich ihres Alkaloidgehaltes äquivalenten Lösungen von Extractum und Tinctura Strychni in Spir. dil. ergaben spektrophotometrisch bestimmte Absorptionskurven, die in ihrem Gesamtverlauf ähnlich waren, an einigen Stellen des Spektrums aber deutliche Unterschiede erkennen ließen. Eine sichere Begründung dieser Unterschiede war nicht möglich.

Im filtrierten UV-Licht fluoreszierende Inhaltsstoffe

Die papierchromatographische Untersuchung der Galenika auf Stoffe mit dieser Eigenschaft machte deutlich, daß sich Extractum und Tinctura Strychni sowohl hinsichtlich der Anzahl als auch hinsichtlich des Ausmaßes und der Intensität der durch diese Stoffe hervorgerufenen Fluoreszenzflecke unterscheiden. Mit Hilfe von Vergleichssubstanzen konnte festgestellt werden, daß von beiden Galenika nur der Extrakt Kaffeesäure enthält.

Ninhydrin-positive Inhaltsstoffe

Auf papierchromatographischem Wege wurde gefunden, daß Extractum Strychni einen Stoff mehr als Tinctura Strychni enthält, der sich mit Ninhydrin-Reagens anfärben ließ.

Elutionsrückstände

Die bei der adsorptionschromatographischen Alkaloidbestimmung nach KUNTZE und HÄDICKE stärker als vorgeschrieben eingedampften Eluate der Galenika unterschieden sich charakteristisch: Das Eluat der Tinktur bildete einen roten, das Eluat des Extrakts einen gelben Rückstand. Diese ölarartigen Rückstände zeigten in Äthanol unterschiedliche Löslichkeit.

Quantitative Unterschiede der Galenika

Gehalt an bis 110°C nicht flüchtigen Begleitstoffen

Aus der Gewichts Differenz zwischen dem bei 110°C getrockneten Extrakt bzw. dem bei gleicher Temperatur erhaltenen Trockenrückstand der Tinktur (vgl. S. 26 f.) und dem quantitativ bestimmten Alkaloidgehalt der entsprechenden Galenika ließ sich die Gesamtmenge der in den Galenika enthaltenen nichtalkaloidischen und bis 110°C nicht flüchtigen Begleitstoffe ermitteln. Hieraus ergibt sich folgender Unterschied zwischen Extractum und Tinctura Strychni.

Extractum Strychni:

Trocknungsverlust 4,8%. Gesamtalkaloidgehalt 14,2%.
100 g Extrakt enthielten demnach 95,2 g Begleitstoffe (s.o.)
+ Alkaloide ,
14,2 g Alkaloide und
81,0 g Begleitstoffe.

Tinctura Strychni:

Trockenrückstand 1,36%. Gesamtalkaloidgehalt 0,22%.
100 g Tinktur enthielten demnach 1,36 g Begleitstoffe
+ Alkaloide ,
0,22 g Alkaloide und
1,14 g Begleitstoffe.

Das Gewichtsverhältnis Alkaloide : Begleitstoffe betrug also

in Extractum Strychni $14,2 : 81,0 = 1 : 5,7$;

in Tinctura Strychni $0,22 : 1,14 = 1 : 5,2$.

Demzufolge enthält der Extrakt, bezogen auf den Gesamtalkaloidgehalt, mehr Begleitstoffe als die Tinktur.

Alkaloidgehalt

Die quantitative Analyse ergab eine unterschiedliche Zusammensetzung des Alkaloidgehaltes in Extractum und Tinctura Strychni. Es wurde gefunden, daß das durchschnittliche Gewichtsverhältnis von Strychnin zu Brucin im Extrakt $46 : 54$, in der Tinktur umgekehrt $54 : 46$ beträgt.

Chlorogensäuregehalt

Durch papierchromatographischen Vergleich der hinsichtlich ihres Gesamtalkaloidgehaltes äquivalenten Galenika mit Chlorogensäurelösungen bekannter Konzentration wurde für die eingestellte Lösung von Extractum Strychni ein Chlorogensäuregehalt von $0,1\%$ und für Tinctura Strychni ein solcher von $0,08\%$ gefunden.

Loganinsäuregehalt

Der in gleicher Weise wie der Chlorogensäuregehalt ermittelte Gehalt der Galenika an Loganinsäure, bezogen auf Loganinlösungen bekannter Konzentration, betrug bei der eingestellten Lösung von Extractum Strychni $0,19\%$ und bei Tinctura Strychni $0,24\%$.

Stickstoffanteil der nichtalkaloidischen Stickstoffverbindungen am Gesamtstickstoffgehalt

Der aus der Differenz zwischen dem Gesamtstickstoffgehalt und dem Alkaloidstickstoffgehalt der Galenika bestimmte Stickstoffgehalt aller nichtalkaloidischen N-haltigen Inhaltsstoffe in Extractum bzw. Tinctura Strychni betrug beim Extrakt $0,743\%$ und bei der Tinktur $0,101\%$.

Der Gesamtstickstoffgehalt der Galenika (Extr. Strychni $1,835\%$; Tinctura Strychni $0,272\%$) setzt sich demnach beim Extrakt aus

59,5% Alkaloidstickstoff und 40,5% nichtalkaloidischem Stickstoff, bei der Tinktur aus 63,0% Alkaloidstickstoff und 37,0% nichtalkaloidischem Stickstoff zusammen.

Eine Übersicht über die unterschiedliche Zusammensetzung von Extractum und Tinctura Strychni bringt Tab. 13.

Aus dieser Gegenüberstellung geht hervor, daß bei gleichem Gesamtalkaloidgehalt Lösungen des Extrakts vorwiegend größere Begleitstoffmengen enthielten als die Tinktur.

Tabelle 13

Quantitativer Vergleich der auf den gleichen Gesamtalkaloidgehalt
eingestellten Galenika⁺)

Inhaltsstoffe	Extractum Strychni	Tinctura Strychni	Relativer Mehrgehalt	
			Extrakt	Tinktur
	g	g	%	%
a) Strychnin	0,101	0,119	-	17,8
b) Brucin	0,119	0,101	17,8	-
c) Chlorogensäure	0,10	0,08	25,0	-
d) Kaffeesäure	0,016	-	(1)	-
e) Loganinsäure	0,19	0,24	-	26,3
f) Summe der bis 110°C nicht flüchtigen Begleitstoffe (+ c, d, e; h z.T.)	1,26	1,14	10,5	-
g) Stickstoff der Gesamtalkaloide	0,0169	0,0171	-	1,4
h) Stickstoff aller nichtalkaloidischen N-Verbindungen (+ f z.T.)	0,0115	0,0101	13,9	-

⁺) Die Gewichtsangaben beziehen sich jeweils auf 100 g Tinctura bzw. 100 g Sol. Extr. Strychni. Der absolute Gehalt von Extractum Strychni sicc. ergibt sich durch Multiplikation der Relativwerte mit dem Faktor 64,5 (s. S. 29). - Der relative Mehrgehalt des einen Galenikums an Inhaltsstoff bezieht sich auf den gleich 100 gesetzten Gehalt des anderen Galenikums.

PHARMAKOLOGISCHER TEIL

A. Allgemeiner Abschnitt

Zur Pharmakologie der Inhaltsstoffe von Samen Strychni

Im Hinblick auf die Problemstellung der vorliegenden Arbeit waren nicht nur die Literaturangaben über die Wirkung der Alkaloide Strychnin und Brucin von Interesse, sondern auch die Veröffentlichungen über den pharmakologischen Effekt der anderen Inhaltsstoffe von Samen Strychni; denn es war naheliegend, für eventuelle Wirkungsunterschiede zwischen den Brechnuß-Galenika und -Reinalkaloiden vor allem die Begleitstoffe verantwortlich zu machen.

Nach der eigenen chemischen Analyse von Extractum und Tinctura Strychni waren in beiden Galenika neben Strychnin und Brucin an Einzelstoffen mit Sicherheit nur Chlorogensäure und Loganinsäure in größeren Mengen nachzuweisen. Andere Inhaltsstoffe wurden nur gruppenweise erfaßt.

Da für die pharmakologischen Untersuchungen der Ganzfrosch, der isolierte Kaninchendünndarm und der isolierte Kaninchendickdarm als Testobjekte in Frage kamen, interessierten besonders solche Veröffentlichungen, die die Wirkung der in den galenischen Präparaten ermittelten Inhaltsstoffe an diesen oder ähnlichen Testobjekten beschreiben.

1. Alkaloide

a. Strychnin

Strychnin ist wohl das bekannteste und am eingehendsten untersuchte Krampfgift. Seine Hauptwirkung ist elektiv gegen die reflexübertragenden Apparate im Zentralnervensystem gerichtet (126). Der pharmakodynamische Effekt des Strychnins, der sich je nach Stärke der Dosis erst durch eine erhöhte reflektorische Erregbarkeit und dann in Form tetanischer Krämpfe äußert, kommt durch das Zusammenwirken von vergiftetem Schaltneuron und vergifteter Vorderhornzelle

im Rückenmark zustande: Die in den Schaltneuronen normalerweise vorhandenen Hemmungen, die sonst die allgemeine Ausbreitung von Reflexen verhindern, werden beseitigt, und damit erfolgt maximale Übertragung und ungehemmte Ausbreitung der die hinteren Hörner treffenden Reize sowie gleichzeitige Innervation von Agonist und Antagonist (127). Die dadurch bedingte unmittelbare Aufeinanderfolge von Beugung und Streckung führt zum Tetanus.

Da der Frosch in besonders typischer Weise auf Strychnin reagiert, wird dieses Tier bevorzugt zum Nachweis des Alkaloids benutzt. Die Wirkung am Frosch nach Applikation von etwa 0,05 mg Strychnin beschreibt am anschaulichsten POULSSON (128) wie folgt:



Abb. 15.

Rana temporaria ♂,
Strychnintetanus.
[nach FÜHNER (172)]

" 15 - 20 Minuten nach subkutaner Injektion einer solchen Dosis bringt eine leichte Berührung oder Erschütterung der Unterlage das Tier zum schreckhaften Zusammenfahren, etwas später reagiert es mit blitzschnellem Ausstrecken der unteren Extremitäten, und bald löst die geringste Veranlassung den typischen Tetanus aus. Sämtliche Skelettmuskeln gehen momentan in tonische Kontraktion über; Lichtreflexe auf der feuchten Haut spiegeln ein flimmerndes Muskelspiel wider, das anzeigt, daß der Anfall aus einer Reihe äußerst rasch aufeinander folgender Kontraktionen besteht, die zusammen den Eindruck einer einzigen langdauernden Zusammenziehung hervorrufen. Das ganze Tier wird steif wie ein Stück Holz und in Extensionsstellung fixiert - nicht weil die Streckmuskeln einer stärkeren Einwirkung unterliegen, sondern weil sie meistens kräftiger sind als die Beugemuskeln. Wo die Flexoren die kräftigeren sind, bestimmen sie die Stellung. So werden beim weiblichen Frosch die schwachen Vorderextremitäten längs des Körpers ausgestreckt gehalten, während die kräftigeren Armflexoren des Männchens, die in der Paarungszeit tagelang das Weibchen festhalten, die Arme unter der Brust kreuzen (s. Abb. 15). Auf der Höhe der Wirkung folgt mit kurzen Pausen, in denen das Tier ermattet zusammensinkt, Anfall auf Anfall, scheinbar spontan, in Wirklichkeit jedoch immer durch irgendeinen Reiz hervorgerufen. Nach der genannten Dosis dauert der Starrkrampf namentlich bei *Rana temporaria* mit voller Stärke viele Stunden bis zu einigen Tagen. Große Dosen bringen bei Fröschen keine oder nur kurzandauernde Krämpfe hervor, die rasch von einer Lähmung, die viele Tage anhalten kann, abgelöst werden. Trotz der langanhaltenden Lähmung bleibt das Tier am Leben, da das Herz zu schlagen fortfährt und der Stillstand der Atmung durch die lebhaftete Hautatmung ausgeglichen wird."

Diese Erscheinungen der Strychninvergiftung verlaufen bei *Rana esculenta* insofern etwas anders, als Exemplare dieser Froschart meist etwas später in Tetanus fallen und rascher das Bild einer Lähmung zeigen als *Rana temporaria* (129, 130). Prinzipiell ist die Wirkung des Strychnins auf die Reflexerregbarkeit bei allen Wirbeltieren gleich, nur ist die Empfindlichkeit der Säugetiere und des Menschen weit höher als die des Frosches. Hunde, Katzen und Kaninchen werden schon durch Gaben von 0,35 - 0,6 mg pro kg getötet, während die letale Dosis für 1 kg Frosch mindestens 2 mg beträgt (128). Außerdem gehen Säugetiere bei Strychninvergiftung schon nach wenigen Krampfanfällen an Respirations- und vasomotorischer Lähmung zugrunde.

Nach LEWIN (131) kommen dem Strychnin "ausgesprochene funktionell-kumulative Wirkungen zu, falls die einzelnen Dosen in zu schneller Aufeinanderfolge oder in zu schneller Steigerung gereicht werden."

Strychnin greift aber nicht nur die Teile des Zentralnervensystems an, die die willkürlichen Muskeln innervieren, sondern auch das vegetative System. So haben mehrere Autoren die Wirkung des Strychnins auf verschiedene Organe bzw. Gefäße mit glatter Muskulatur (in situ und als isolierte Präparate) beschrieben⁺):

Nach BOCHEFONTAINE (132) erzeugt Strychnin bei Hunden z.B. starke Kontraktionen der *M i l z*, die mit dem allgemeinen Tetanusanfall zusammenfallen. Diese Reaktion zeigt die Milz auch bei curarisierten Tieren; sie bleibt aber aus, wenn der Splanchnicus durchschnitten wird, und hängt deshalb nicht von einer Einwirkung auf periphere Sympathicusverzweigungen ab.

SCHÜTZ (133) stellte fest, daß der ausgeschnittene, in feuchter Kammer bei Körpertemperatur aufbewahrte *M a g e n* eines intravenös strychninvergifteten Hundes starke, rhythmische Kontraktionen zeigte, an denen auch das mitisolierte Duodenum teilnahm. An dem gleichen Organ (in situ) curarisierter Hunde beobachtete DOYON (134) nach Strychnininjektion erhöhten Tonus und lebhafte Bewegungen.

⁺) Die folgenden Angaben wurden z. T. von POULSSON (128) übernommen.

Wurde bei diesem Versuch der eine Vagus durchschnitten und das periphere Ende gereizt, so trat keine Kontraktion, sondern eine deutliche Erschlaffung des Magens ein, die aber von einer starken Zusammenziehung gefolgt war, wenn die Reizung aufhörte. Daraus wurde geschlossen, daß das Strychnin wahrscheinlich die Wirkung von im Vagus verlaufenden Hemmungen der Magenbewegungen begünstigt. Bei Anwendung sehr großer, lähmender Strychnindosen an Fröschen fand POLAK (135), daß die Magenbewegung abgeschwächt wurde.

Nach PELLACANIS (136) Versuchen mit Hunden wird bei kleinen Strychnindosen die Reflexerregbarkeit der Harnblase gesteigert, während sich nach größeren Dosen starke Blasenkontraktionen noch vor den Krämpfen in den willkürlichen Muskeln einstellen, die auch nach Zerstörung des Lumbalmarks andauern. Auch auf den Sphincter und Detrusor des Menschen wirkt Strychnin, wobei allerdings die Ansichten geteilt sind, welcher der beiden Muskeln darauf stärker anspricht. Auf jeden Fall wird bei Vergiftungen mit Strychnin oft Urinretention beobachtet (137). - Außerdem nehmen bekanntlich auch die glatten vom Sympathicus innervierten Muskeln des Auges am Strychnin-Tetanus teil (Pupillendilatation, Protrusion des Bulbus).

WADDELL (138) fand bei Versuchen am isolierten Vas deferens von Ratten und Kaninchen, daß Strychnin sowohl das ruhende als auch das rhythmisch tätige Gefäß erregt und dessen Tonus steigert. Da diese Wirkung weder durch Atropin (Lähmung des parasympathischen Bewegungsapparats) noch durch Ergotoxin (Lähmung der sympathischen Bewegungsnerven) behindert wurde, schloß WADDELL daraus, daß die Strychninwirkung auf einer direkten Erregung der Muskelfasern beruht.

Zu dem gleichen Resultat kam GESSNER (139) bei Versuchen am isolierten, spontan tätigen Rüssel des Meerwurmes *Sipunculus nudus*. Auch hier bewirkte Strychnin - in Konzentrationen von 10^{-4} g/ml oft und von 10^{-3} g/ml immer - Tonussteigerung und Erregung der rhythmischen Kontraktionen. Die Wirkung wurde von Adrenalin (Erregung der sympathischen Nervenendigungen) und Nicotin (Erregung bzw. Lähmung der sympathischen Nervenendigungen) nicht beeinflusst. Am isolierten, tätigen Hühneramnion wirkte Strychnin schon bei Dosen von 10^{-6} - 10^{-5} g/ml erregend, während höhere Konzentrationen als 10^{-3} g/ml reversibel lähmten. Versuche am nervenelementfreien Amnion zeigten, daß Strychnin an der kontraktile Substanz selbst

angreift.

Nach SCHLESINGER (140) gerät auch der Uterus curarisierter Kaninchen in Tetanus, wenn den Tieren geringe Strychninmengen injiziert werden. Die Gebärmutterkrämpfe treten, wie RÖHRIG (141) berichtet, auch nach Durchschneidung des Halsmarks bzw. nach Markzerstörung am 10. Brustwirbel auf, werden aber nicht mehr wahrgenommen, sobald das Lendenmark zerstört ist. Am isolierten Katzenuterus beobachtete KEHRER (142) bei Strychninkonzentrationen von 1 - 5 mg / 200 ml Ringerlösung Kontraktionen von dosenabhängiger Stärke.

YONKMAN (143), der den Einfluß von Strychnin auf die Muskeltätigkeit des Dünndarms bei nicht narkotisierten Hunden mit Thiry-Vella-Fistel (Ballonmethode) untersuchte, fand, daß Strychnindosen von 0,03 - 0,07 mg s.c. und von 0,025 mg i.v. die Muskeltätigkeit des Dünndarms mit individuellen Schwankungen steigern. So nahm die Häufigkeit und Ausdehnung der peristaltischen Wellen nach Strychnin in den meisten Fällen zu (bis um 50%), blieb aber in einigen Versuchen unverändert. Ebenso war der Tonus der Darmmuskeln im allgemeinen gesteigert, teilweise jedoch herabgesetzt. Bei Zerstörung der Nervenversorgung des Darmes im Mesenterium unter Schonung der Gefäßversorgung wurde die Strychninwirkung trotz der dadurch auftretenden Degenerationserscheinungen nicht gestört. Auch Injektion von Atropin in Dosen, die die Vagusfasern lähmen, blieb ohne Einfluß auf den Strychnineffekt. Da dies auch nach Verödung der äußeren Nervenfasern der Fall war, wurde daraus gefolgert, daß das Strychnin anscheinend am Auerbachschen Plexus angreift.

Das von YONKMAN beschriebene uneinheitliche Verhalten des Strychnins am intakten Hundedarm wurde von GRUBER, BRYAN und RICHARDSON (144) am gleichen Testobjekt bei intravenös verabreichten Strychninsulfatgaben bestätigt.

Die Wirkung des Strychnins auf den isolierten Dünndarm des Kaninchens untersuchte INOKUTI (11). Er stellte fest, daß Strychnin in einer kleinen Menge ($2 \cdot 10^{-6}$ bis $2 \cdot 10^{-4}$ g/ml) durch die Erregung des Auerbachschen Plexus fördernd, in einer großen (10^{-4} bis $4 \cdot 10^{-4}$ g/ml und darüber) dagegen durch die Lähmung der glatten Muskulatur hemmend wirkt. Bei dazwischen liegenden mittelgroßen Strychnindosen beobachtete INOKUTI vor oder nach der

Bewegungsförderung eine vorübergehende hemmende Wirkung, die seiner Meinung nach durch die Erregung der Sympathicusendigungen herbeigeführt wird.

Das Strychnin zeigt danach am isolierten Kaninchendünndarm ein ähnlich verschiedenes Wirkungsbild wie bekanntlich Atropin, das nach INOKUTI (145) in einer kleinen Menge durch die Lähmung der Vagusendigungen hemmend, in einer mittelgroßen durch die Erregung des Auerbachschen Plexus fördernd und in einer großen durch die Lähmung der glatten Muskulatur wieder hemmend wirkt⁺).

Am isolierten Dickdarm des Kaninchens ("the lower part of the descending colon") fanden LANGLEY und MAGNUS (10), daß Strychnin den Tonus erhöht und die rhythmischen Kontraktionen verstärkt, während es deren Frequenz entweder steigert oder herabsetzt. Die Wirkung soll in starkem Maße von der Kondition des jeweiligen Darmpräparats abhängig sein und wurde nach den Angaben der Autoren z.B. bei Endkonzentrationen von $6,25 \cdot 10^{-5}$ bzw. $4 \cdot 10^{-4}$ g Strychninsulfat auf 1 ml Ringerlösung hervorgerufen. Auch LANGLEY und MAGNUS erklären den von ihnen beobachteten Effekt mit der erregenden Wirkung des Strychnins auf den nervösen Bewegungsmechanismus des Auerbachschen Plexus.

Wie aus dieser Zusammenstellung hervorgeht, wirkt Strychnin auf glattemuskelige Organe sowohl erregend als auch lähmend. Der Angriffspunkt dieser Wirkungen wird teils im Plexus myentericus, teils in den sympathischen Nervenendigungen und teils in den Muskelfasern selbst gesehen.

Eine befriedigende Erklärung für den Wirkungsmechanismus des Strychnins ganz allgemein wurde bisher noch nicht gefunden (147).

⁺ Die außerordentlich wechselnde Wirkung des Atropins auf den isolierten und den intakten Säugetierdarm beschrieb zuvor LILJE-STRAND (146). Während jedoch die muskuläre Wirkung des Atropins an Konzentrationen geknüpft ist, die 5-6 Zehnerpotenzen über den parasymphathicolytisch wirksamen Konzentrationen liegen (9), liegen die ähnliche Wirkungsunterschiede hervorruhenden Strychninkonzentrationen sehr nahe beieinander.

b. Brucin

Gegenüber der außerordentlich umfangreichen Strychnin-Literatur ist die Zahl der über Brucin erschienenen Veröffentlichungen verschwindend gering. Dies liegt vor allem daran, daß das Brucin im wesentlichen die gleichen Wirkungen hervorruft wie Strychnin, aber bedeutend schwächer wirkt als dieses.

Nach MORRISON und BLISS JR. (148) beträgt die relative Wirksamkeit von Strychnin und Brucin, ausgedrückt in Verhältniszahlen für die Mengen, die den gleichen pharmakologischen Effekt herbeiführen, bei der Katze 1:35, beim Kaninchen 1:37, beim Hund 1:45 und beim Frosch 1:80. Bei Mäusen, die sich nach ROTHMALER (149) durch eine besonders große Resistenz gegen Brucin auszeichnen, soll das Zahlenverhältnis der letalen Dosen von Strychnin und Brucin sogar den Wert 1:140 annehmen.

In qualitativer Hinsicht unterscheiden sich die beiden Alkaloide vor allem dadurch, daß beim Brucin die Curarewirkung auf die motorischen Nervenenden (130) und wahrscheinlich zugleich die zentrale Lähmung (150) viel mehr hervortritt als beim Strychnin.

"Dadurch wird bei Fröschen, namentlich bei *Rana esculenta*, das Vergiftungsbild so geändert, daß ein typischer Tetanus nicht zur Entwicklung kommt. Die Tiere fallen, je nach der Größe der Dosen, entweder unmittelbar oder nach einem kurzen Stadium erhöhter Reflexerregbarkeit und schwachen Krämpfen der motorischen Lähmung anheim. Bei *Rana temporaria* tritt nach kleinen Dosen ein regulärer Tetanus ein, der jedoch meistens nicht die Intensität und Dauer der Strychninkrämpfe erreicht. Sind die Dosen einigermaßen groß, so sind die Krämpfe auch bei *Temporaria* nur angedeutet und werden schon nach wenigen Minuten von Lähmung abgelöst; zuletzt hören die Bewegungen der Atmungsmuskulatur auf. Behandelt man die Tiere sorgfältig, so kann die Vergiftung denselben eigentümlichen Verlauf nehmen wie bei der Strychninintoxikation: Nach tagelanger kompletter Unbeweglichkeit stellen sich schwache Reflexzuckungen ein, die die Einleitung zu einem mehrtägigen Tetanus bilden, worauf die Tiere sich allmählich erholen. Bei *Esculenten* ist auch dieses zweite Krampfstadium schwächer als bei *Temporarien*.

Bei Säugetieren kommt die lähmende Wirkung des Brucins weniger deutlich zum Vorschein, und der Verlauf der Vergiftung läßt sich nach äquivalenten Dosen kaum von der Strychninvergiftung unterscheiden."

(POULSEN, 128)

Weitere qualitative Unterschiede zwischen Strychnin und Brucin sind die, daß dem Brucin kumulative Wirkungen fehlen sollen (131), und daß das Brucin lokalanästhetisch wirken soll, während dem Strychnin

ein solcher Effekt abgesprochen wird (151). Von besonderem Interesse für die vorliegende Arbeit war die Mitteilung von GORIS und LACHAISE (152), wonach Brucin bei gleichzeitiger Applikation mit Strychnin zu einer Abschwächung der Strychninwirkung führen soll, vermutlich deshalb, weil es ebenfalls Nervensubstanz fixiert und diese dadurch dem Angriff des viel stärker wirksamen Strychnins entzieht (kompetitive Hemmung).

Spezielle Veröffentlichungen über die Brucinwirkung auf Organe mit glatter Muskulatur liegen nicht vor. Da diese Wirkung aber für die eigenen Arbeiten prinzipiell wichtig war, wurden hierzu besondere Versuche am isolierten Dünndarm und Dickdarm des Kaninchens durchgeführt.

c. Nebenalkaloide

Von den in Samen Strychni vorkommenden Nebenalkaloiden (s. Abb. 1, S. 10) zeigen α - und β -Colubrin im chemischen und pharmakologischen Verhalten die größte Ähnlichkeit mit Strychnin und Brucin. In chemischer Hinsicht stehen sie dem Brucin näher als dem Strychnin, in bezug auf ihre Giftigkeit stehen sie zwischen den beiden Hauptalkaloiden. Die von WARNAT (27) angegebene letale Dosis pro kg Maus intravenös beträgt für Strychnin-HCl 0,75 mg, für α -Colubrin-HCl 1,5 mg, für β -Colubrin-HCl 6,6 mg und für Brucinsulfat 33,0 mg.

Das ebenfalls von WARNAT (27) beschriebene Pseudostrychnin ähnelt in chemischer Hinsicht eher dem Strychnin (daher der Name), unterscheidet sich aber von allen anderen Brechnuß-Alkaloiden dadurch, daß es nicht bitter schmeckt. Seine Giftigkeit ist noch geringer als die des Brucins. Die letale Dosis pro kg Maus intravenös beträgt nach WARNAT für Pseudostrychninnitrat 100 mg.

Ergebnisse über Untersuchungen dieser drei Nebenalkaloide am Frosch oder an glattem Muskeligen Präparaten liegen nicht vor.

Das vierte der bisher isolierten Nebenalkaloide, Vomicin, weicht in seiner physiologischen Wirkung grundlegend von den anderen Brechnuß-Alkaloiden ab. Während das Vergiftungsbild der anderen

Alkaloide von reflektorisch bedingten tonischen Streckkrämpfen beherrscht wird, haben die von RUICKOLDT (153) beschriebenen durch Vomicin hervorgerufenen Krämpfe klonischen Charakter und werden nur spontan ausgelöst. Die am Frosch beobachteten Krämpfe gleichen weitgehend den nach Pikrotoxinvergiftung auftretenden typischen Erscheinungen. Der Angriffspunkt des Vomicins liegt nicht im Rückenmark, wie bei Strychnin und Brucin, sondern in höheren Zentren des ZNS. Seine Giftigkeit ist äußerst gering. Auf intravenöse Vomicin-HBr-Dosen von 120 mg/kg erholen sich Kaninchen innerhalb von 45 min völlig⁺), nach 100 mg/kg subkutan treten überhaupt keine Vergiftungserscheinungen auf. Ebenfalls ohne Krämpfe ertragen Mäuse Vomicin-HBr-Dosen von 400 mg/kg. Frösche reagieren erst ab Dosen von etwa 200 mg/kg auf Vomicin-HBr und erholen sich auch von 450 mg/kg nach 24 - 30 h völlig.

Auf das isolierte Froschrektum und auf den isolierten Kaninchendünndarm wirkt Vomicin in niedrigen Dosen motilitätshemmend und in hohen Dosen irreversibel lähmend. Die Vomicin-HBr-Konzentrationen, die hierzu erforderlich waren, betrugen beim Froschrektum $5 \cdot 10^{-5}$ bzw. $2 \cdot 10^{-4}$ g/ml, beim Kaninchendünndarm $2,5 \cdot 10^{-5}$ - $1,25 \cdot 10^{-4}$ g/ml. Der auf Histamin ansprechende isolierte virginelle Uterus des Meerschweinchens konnte durch Vomicin nicht zur Kontraktion gebracht werden (153).

Über das zuletzt entdeckte Nebenalkaloid Novacin wurden bisher keine pharmakologischen Untersuchungsergebnisse veröffentlicht. Auf Grund seiner ähnlichen Konstitution steht es in seiner physiologischen Wirkung vermutlich dem Vomicin nahe.

Da der Anteil aller Nebenalkaloide am Gesamtalkaloidgehalt der Brechnußamen zusammen nur 2 - 3% beträgt, ist - nach dem Gesagten - eine Beeinflussung der Galenika-Wirkung durch die Nebenalkaloide wohl kaum wahrscheinlich.

⁺) Die intravenöse letale Dosis Strychninnitrat liegt beim Kaninchen zwischen 0,2 und 0,5 mg/kg (!) (128).

2. Begleitstoffe (Nichtalkaloide)

a. Chlorogensäure

Die pharmakologische Wirkung der Chlorogensäure wurde bisher fast ausschließlich im Hinblick auf die Frage untersucht, ob dieser relativ gut wasserlösliche Stoff (1:25, kalt), der zu etwa 8-10% in rohem und zu etwa 4% in geröstetem Samen *Coffeae arabicae* (Bohnenkaffee) vorkommt und deshalb von vielen Menschen regelmäßig in beträchtlichen Mengen konsumiert wird (durchschnittlich ca. 200 mg pro Tasse üblichem Bohnenkaffee-Aufguß), einen schädlichen Einfluß auf den menschlichen Organismus ausüben könne. Nach den bisher gewonnenen Untersuchungsergebnissen wird diese Frage allgemein verneint, insbesondere deshalb, weil die Chlorogensäure eine äußerst geringe Toxizität besitzt (154-156).

Als toxische Dosis fand SEEL (157) am isolierten Froschherzen 1 mg der freien Säure und an der Maus (20 g) bei subkutaner Injektion 60-70 mg des Natriumsalzes. KOCHMANN (37) stellte demgegenüber fest, daß nur die freie Chlorogensäure in einer Gabe von 70 mg/20 g Maus intraperitoneal auf Grund ihres Säurecharakters durch Ätz- und Schockwirkung tödlich ist und in gleicher Menge auch bei subkutaner Injektion nur deshalb teilweise zum Tode führt, weil sie in der erforderlichen Konzentration (7%ige Lösung) lokale Nekrosen und Eiterungen hervorruft, während dies bei Anwendung der Chlorogensäure als neutrales Natriumsalz nicht der Fall sein soll. Bei peroraler Darreichung von 70-85 mg freier Chlorogensäure pro 20 g Maus sollen keinerlei krankhafte Veränderungen der Tiere auftreten. Ebenso sollen Kaninchen und Katzen 1-2 g/kg Tier freie Chlorogensäure per os ohne Vergiftungserscheinungen vertragen (37, 38, 154).

Trotz dieser Befunde wird die Chlorogensäure als physiologisch nicht völlig indifferent bezeichnet (157, 158). Diese Auffassung wird vor allem durch die Untersuchungen der Chlorogensäurewirkung am Magen-Darm-Kanal bestätigt, die für die vorliegende Arbeit von besonderem Interesse waren.

Zuerst beobachtete KOMANT (159) bei vergleichenden Versuchen mit Aufgüssen von unvorbehandeltem und entcoffeinisiertem Bohnenkaffee

am isolierten Meerschweinchendünndarm nach TRENDLENBURG, daß beide Extrakte eine deutliche Tonussteigerung bewirkten, aber nur durch den Extrakt aus nicht vorbehandelten Kaffeebohnen Peristaltik ausgelöst wurde. KOMANT folgerte daraus, daß für die Tonussteigerung wohl die "Röstprodukte" (Chlorogensäure?) verantwortlich gemacht werden müßten. Die bei seinen Versuchen angewandte Chlorogensäurekonzentration betrug etwa $1,3 \cdot 10^{-4}$ g/ml. Später teilte SCHÜBEL (154) mit, daß chlorogensaures Natrium und die freie Chlorogensäure am isolierten Kaninchendünndarm allmählich eine Schädigung hervorrufen (nähere Angaben fehlen), während der isolierte Kaninchenuterus durch Chlorogensäure in Konzentrationen von $2 \cdot 10^{-3}$ g/ml und durch deren Natriumsalz in Konzentrationen von $4 \cdot 10^{-3}$ g/ml zu vermehrten und stärkeren Kontraktionen angeregt wird.

Nach den neuesten Untersuchungen von CZOK und LANG (160) löst Chlorogensäure bei Mäusen (Gesamtdarm in vivo, Tuschetransport-Methode) bereits nach peroralen Gaben von 5 mg/kg (= 0,1 mg/20 g, vgl. oben!) und bei Ratten (Dünndarm in vivo, Ballon-Methode) sogar schon nach intraduodenalen Gaben von 2 mg/kg eine deutliche Anregung der Darmperistaltik aus. CZOK und LANG konnten bei ihren Ratten-Versuchen außerdem feststellen, daß nach Gaben von 4 mg/kg Chlorogensäure am Dünndarm deutliche, zum Teil über viele Minuten anhaltende Tonussteigerungen auftraten. Eine Beschleunigung der Darmperistaltik war in geringerem Ausmaß auch dann zu erzielen, wenn die Chlorogensäure in den gleichen Dosen subkutan gegeben wurde.

Dieselben Autoren untersuchten ferner die Chlorogensäurewirkung auf den isolierten Rattenuterus nach MAGNUS. Sie fanden, daß Chlorogensäure erst bei Erreichung einer Endkonzentration von 10^{-3} g/ml eine deutliche Tonussteigerung hervorruft, der eine Frequenzzunahme vorausgeht. Die erzielten Tonussteigerungen hielten verhältnismäßig lange an und ließen sich durch Atropin nicht beeinflussen, während Papaverin eine prompte Herabsetzung und Normalisierung des erhöhten Tonus bewirkte. CZOK und LANG schließen daraus, daß die tonussteigernde Wirkung der Chlorogensäure durch eine direkte Anregung der Muskelzellen ohne Mitbeteiligung nervöser Elemente zustande kommt.

Von weiterem Interesse für die vorliegende Arbeit waren Untersuchungen, die sich auf die Beeinflussung bestimmter Pharmaka-Wirkungen durch Chlorogensäure beziehen.

Auch in diesem Punkt stand bisher das Kaffee-Problem im Vordergrund. Chlorogensäure liegt im Röstkaffee zur Hälfte als Kaliumchlorogenat und zur Hälfte komplex gebunden als chlorogensaures Kalium-Coffein (Coffeinkomplexsalz) vor (154). Untersuchungen von GEBHARDT (158) mit äquivalenten Mengen Coffein als Coffeinum purum und Coffeinkomplexsalz ergaben, daß die Chlorogensäure im chlorogensauren Kalium-Coffein eine Entgiftung des Coffeins um rund 50 % bewirkt (Kaninchen) und dessen anfänglich diuretischen Effekt auf das Zweibis Dreifache steigert (Ratte). Diese Beeinflussung kommt dadurch zustande, daß das Coffeinkomplexsalz rascher zur Niere wandert als reines Coffein, wodurch die Anhäufung des Purins im Organismus verzögert und die Verstärkung der diuretischen Wirkung verständlich wird. Diese Ergebnisse wurden von TRIENDL (161) an Mäusen bestätigt.

Am überlebenden Froschmuskel verhalten sich nach SCHÜBEL (154) das Komplexsalz und reines Coffein der Art, daß beide etwa gleich starke Muskelkontraktionen hervorrufen - das Komplexsalz sofort, Coffein dagegen etwas später -, das Kontraktionsmaximum jedoch beim Komplexsalz auf Grund allmählicher Hydrolyse viel später erreicht wird. Bei gleichzeitiger Einwirkung von Coffein und Chlorogensäure in molaren Mengen auf den Muskel wird die Coffeinwirkung stark gehemmt.

Andere Versuche von CLARK und GEISSMAN (162) zeigten, daß Chlorogensäure die Adrenalinwirkung am isolierten Dünndarm des Kaninchens in gleichem Maße verstärkt wie Rutin.

b. Loganin

Pharmakologische Untersuchungen von P. MARQUARDT [†]) mit dem bis zu 10 % leicht in Wasser löslichen Loganin ergaben, daß dieses Glucosid offensichtlich kaum toxisch ist: Am STRAUBSchen Froschherzen ist nach 0,5 ml der 10 % igen Lösung praktisch kein Effekt zu sehen; am Kaninchendarm wird die Acetylcholin-Kontraktion nicht beeinflusst, auch dann nicht, wenn die Loganinlösung vor der Applikation

[†]) Persönliche Mitteilung von Herrn Professor Dr. Dr. K.W. MERZ, auf dessen Bitte hin diese Untersuchungen im Jahr 1952 durchgeführt wurden.

von Acetylcholin gegeben wird; und der Blutdruck der Katze wird von 0,5 - 5,0 ml Loganinlösung am Normaltier und am atropinisierten Tier ebenfalls nicht verändert.

Andere pharmakologische Untersuchungsergebnisse über diesen Stoff liegen bisher nicht vor.

c. Sonstige Begleitstoffe

Daß die anderen, in den Galenika nur qualitativ nachgewiesenen nichtalkaloidischen Inhaltsstoffe von Samen Strychni - u.a. Aminosäuren und Flavonoide - bei Anwendung der Brechnußpräparate zum Teil pharmakologisch wirksam werden können, kann nicht ohne weiteres von der Hand gewiesen werden. So haben beispielsweise CREDNER und SCHUMRICK (163) am isolierten Kaninchendarm gefunden, daß Aminosäuren, die Antihistaminwirkung zeigen, eine eigene darmlähmende Wirkung besitzen, und FUKUDA (164) stellte bei Versuchen am Mäusedarm fest, daß Flavonole, z.B. Kämpferolglykosid, die Pendelbewegung der Darmschlinge verstärken und den Tonus des Darms in vivo erhöhen, während sie am isolierten Darm nur lähmend wirken.

Selbst dem in der Tinctura Strychni DAB.6 vorkommenden Brechnußfett kann nicht jegliche pharmakologische Wirksamkeit abgesprochen werden, wie es BÜCHI (5) tut. Versuche von CZOK, LANG und KIECKEBUSCH (165) haben nämlich ergeben, daß durch perorale Gaben von Kaffee-fett, das keine prinzipiellen Unterschiede gegenüber dem Brechnußfett aufweist und deshalb ebenfalls als "Ballaststoff" bezeichnet werden könnte, die zentrale Erregbarkeit von Ratten eindeutig gesteigert wird (coffeinähnliche Wirkung), und daß dieses Fett auch in der Lage ist, die zentralerregende Wirkung des Coffeins zu verstärken, allerdings nicht in dem Maße, wie es durch Summation der Einzelwirkungen zu erwarten wäre.

3. Untersuchungsmethoden

Da die Hauptwirkung der Brechnuß-Galenika zweifellos dem Strychnin zuzuschreiben ist, waren für die vorliegende Arbeit nur solche pharmakologischen Methoden interessant, die eine qualitative und quantitative Bestimmung des Strychnins gestatten.

Das außerordentlich charakteristische und präzise Bild der Strychninwirkung am Frosch (s. S. 81) und die zu seiner Hervorbringung erforderliche minimale Giftdosis haben dazu geführt, daß der Frosch das bevorzugte Versuchsobjekt zum biologischen Nachweis des Strychnins wurde und bis heute blieb. Die zu diesem Zweck gewöhnlich verwendeten Froscharten sind in Europa der braune Grasfrosch (*Rana temporaria* Charlet 1677 = *Rana fusca terrestris* Rösel 1758) und der grüne Wasserfrosch (*Rana esculenta* Linné 1758 = *Rana viridis aquatica* Rösel 1758), in Nordamerika der "Common Grass Frog" oder "Leopard Frog" (*Rana pipiens pipiens* ⁺) (166-169). Letzterer ist in morphologischer und biologischer Hinsicht *Rana temporaria* sehr ähnlich.

Über die niedrigste Strychnindosis, die am Ganzfrosch den typischen Tetanus hervorruft und vorwiegend die Grundlage quantitativer Untersuchungen bildet, liegen verschiedene Angaben vor.

Nach FÜHNER (172) beträgt sie bei "Zimmertemperatur" 0,02 - 0,05 mg des Nitrats für mittelgroße Esculenten ⁺⁺). Als Zeitspanne von der Injektion bis zum ersten auf äußere Reize erfolgenden Tetanus-Anfall (Latenzzeit) werden für die Strychnindosis von 0,05 mg (= 1,0 - 1,25 γ /g Frosch) 20-30 Minuten genannt. - Die Latenzzeit bis zum spontan eintretenden Tetanus dauert länger. - FALCK (173) ermittelte - in ziemlicher Übereinstimmung mit FÜHNER - für frisch eingefangene Esculenten eine tetanuserzeugende Mindestdosis Strychninnitrat von 1 γ /g. Die Latenzzeiten bis zum spontanen Tetanus-

⁺) Als Autorennamen findet man gleichbedeutend: Schreiber (169), Shreder (170) und Schreiber (171).

⁺⁺) Ohne Angabe über Tierhaltung und Gewicht. Das Froschgewicht dürfte bei etwa 40-50 g liegen, da FÜHNER Esculenten von 25-30 g als klein bezeichnet. Die niedrigste tetanuserzeugende Dosis Strychninnitrat pro Gramm Frosch beträgt danach 0,4 - 1,25 γ .

Eintritt lagen bei Dosen von 0,94 - 1,87 γ/g zwischen 31 und 79 Minuten. FOCKE (174) gibt dagegen an, daß *Rana esculenta* von 20 - 30 g noch auf 0,01 mg Strychnin (= 0,33 - 0,5 γ/g) bei "geeigneter Temperatur" in 1 - 2 Stunden mit typischem Tetanus anspricht. Temporarien reagieren gewöhnlich erst bei etwas höheren Strychnindosen mit Tetanus. So nennt FUCHS (175) für *Rana temporaria* eine hierzu erforderliche Mindestdosis von 0,06 mg Strychnin pro Frosch, die bei 19°C in "kurzer Zeit" zum Krampf führe.

Für *Rana pipiens* [†]) bestimmte LOVETT (176) die geringste tetanus-erzeugende Dosis Strychninsulfat zu 0,9 γ/g ; sie führte in 14 - 65 Minuten zum spontanen Tetanus. SOLLMAN (177) ermittelte dagegen an derselben Species für dasselbe Salz 1,0 - 1,5 γ/g als "just tetanic".

Diese zum Teil divergierenden Angaben finden ihre erste Erklärung durch die eingehenden Untersuchungen von GITHEENS (178), der an *Rana pipiens* ^{††}) aufzeigte, daß die kleinste Krampfdosis Strychnin weitgehend von der Temperatur abhängig ist, bei der die Versuchstiere gehalten werden. Die gleiche Abhängigkeit zeigen auch die von der Strychnin-Injektion bis zum Tetanus-Eintritt verstreichen- den Latenzzeiten (s. Tab. 14).

Die zweite Erklärung für die abweichenden Angaben über die krampfauslösenden Minimaldosen von Strychnin ergibt sich aus den Untersuchungen von WEISS und HATCHER (170). Diese Autoren stellten fest, daß Frösche (*Rana pipiens*), je nachdem, ob sie kurz nach dem Einfangen ("Sommerfrösche") oder erst nach längerem Fasten in der Gefangenschaft ("Winterfrösche") mit Strychnin injiziert werden, eine verschieden große Empfindlichkeit gegenüber dem Gift aufweisen: Frisch eingefangene Frösche sind gegen Strychnin resistenter als fastende ^{†††}).

[†]) Kleine, frisch eingefangene Exemplare "of the green and spotted varieties".

^{††}) Zu den Versuchen wurden "Winterfrösche" in den Monaten Januar und Februar benutzt.

^{†††}) Dieses Ergebnis kann nicht verallgemeinert werden; denn BIDDER (180) fand z.B., daß Curare gegenüber hungernde Winterfrösche resistenter sind als frisch eingefangene Sommerfrösche.

Tabelle 14

Häufigkeit der Tetanus-Fälle (%) und mittlere Latenzzeiten (t) bis zum Tetanus-Eintritt nach kleinen Strychninsulfat-Dosen bei verschiedenen Temperaturstufen unter Verwendung von durchschnittlich 10 Versuchstieren (*Rana pipiens*, 15-30 g) pro Gruppe. (nach GITHENS)

Dosis	5°C		13°C		18°C		21°-24°C		27°-30°C	
γ/g	%	t	%	t	%	t	%	t	%	t
0,6	100	2 h	100	105'	100	113'	100	46'	100	49'
0,5	100	8 h	80	3 h	33	87'	20	108'	100	36'
0,3	100	10 h	kein Tetanus		kein Tetanus		18	15'	30	35'
0,2	60	10- 16 h	kein Tetanus		kein Tetanus		kein Tetanus		kein Tetanus	

Der Grund für dieses eigentümliche Verhalten des Frosches ist einerseits in seinem besonders temperatur- und konditionsabhängigen Stoffwechsel (171, 179-185) und andererseits in der jahreszeitlich unterschiedlichen Entgiftungsfähigkeit seiner Leber gegenüber Strychnin (170, 186) zu suchen.

Das Vorausgeschickte zeigt, daß besonders an einen **e x a k t e n** quantitativen Nachweis des Strychnins am Frosch verschiedene Bedingungen geknüpft werden müssen, ohne deren Erfüllung kein reproduzierbares Ergebnis gewonnen werden kann. Zu diesen Bedingungen gehören vor allem die Verwendung eines einheitlichen Tiermaterials und die Einhaltung konstanter Versuchstemperaturen.

Wegen der bei Nichtbeachtung dieser Faktoren sich zwangsläufig ergebenden Ungenauigkeit der Froschversuche wurden von mehreren Autoren andere Versuchsobjekte auf ihre Eignung zum quantitativen biologischen Nachweis des Strychnins geprüft. Als hierzu brauchbar erwiesen sich nach FALCK (187) und VEIT (188) junge weiße Mäuse (Registrierung der Zitterbewegung des Schwanzes), nach KOLL (189) Kaulquappen und nach BLUME (190) und PLUM (191) Moorkarpfen (*Carassius vulgaris*). Diese Methoden, die durchweg sogar noch geringere

Strychninmengen erfordern als die übliche Methode am ausgewachsenen Frosch, haben sich jedoch nicht durchgesetzt. Außerdem müssen bei ihrer Durchführung ähnliche Bedingungen erfüllt werden wie bei der Froschmethode, um zu reproduzierbaren Ergebnissen zu gelangen.

Eine Methode zur quantitativen Auswertung des Strychnins an glattmuskuligen Organen wurde bisher noch nicht beschrieben. Sämtliche Untersuchungen der Strychninwirkung an diesen Testobjekten, die im allgemeinen in den bekannten Versuchsanordnungen nach MAGNUS (192) bzw. TRENDELENBURG (193) durchgeführt wurden, galten in erster Linie dem qualitativen Strychnin-Nachweis.

Die beabsichtigte Verwendung des isolierten Kaninchendarms zur vergleichenden Untersuchung der reinen Strychnin-Brucin-Wirkung und der Wirkung der Strychnos-Galenika machte deshalb eine vorausgehende Prüfung dieses Testobjekts auf seine Eignung auch zur quantitativen Auswertung der betreffenden Wirkungen erforderlich.

Untersuchungen, die mit der eigenen Arbeit in gewissem Zusammenhang stehen, wurden nur von ARNOLD (194) mit Extractum Strychni sowie von ROJAHN und HERZOG (64) mit Tinctura Strychni an Fröschen durchgeführt. Im Gegensatz zur vorliegenden Problemstellung sollten diese Untersuchungen jedoch lediglich den Beweis erbringen, daß die biologisch ermittelte Wirksamkeit der Galenika mit ihrem chemisch ermittelten Alkaloidgehalt übereinstimme.

B. Spezieller Abschnitt

Eigene Untersuchungen von Reinsubstanzen und Galenika aus Semen Strychni an verschiedenen Testobjekten

Die Problemstellung der vorliegenden Arbeit, der pharmakologische Vergleich zwischen Reinalkaloiden und galenischen Zubereitungen aus Semen Strychni, erforderte neben der chemischen Analyse der Galenika, die eine dem jeweiligen Alkaloidgehalt entsprechende Dosierung von Extractum und Tinctura Strychni ermöglichte, biologische Testobjekte, an denen die Wirkung von Strychnin bzw. Brucin qualitativ und quantitativ bestimmt werden konnte.

Wie die im vorausgehenden Abschnitt zusammengestellte Literatur zeigt, sind jedoch neben sehr vielen qualitativen Verfahren bisher nur wenige Untersuchungsmethoden bekannt, die sich auch für eine quantitative pharmakologische Analyse der Brechnußalkaloide eignen. Methoden der letzteren Art, die sich auf ein größeres Zahlenmaterial stützen und die Grundlage für entsprechende Dosis-Wirkungs- oder Dosis-Zeit-Kurven bildeten, wurden von FALCK (173), LOVETT (176), GITHENS (178) sowie WEISS und HATCHER (170) durchgeführt. Das von allen diesen Autoren mit Erfolg benutzte Testobjekt war der Ganzfrosch, der auch zu den eigenen Untersuchungen herangezogen wurde. Die von FALCK (187) an jungen weißen Mäusen, von KOLL (189) an Kaulquappen und von PLUM (191) an kleinen Moorkarpfen ebenfalls mit Erfolg angestellten Versuche zur quantitativen biologischen Auswertung kleinster Strychninmengen wurden in der vorliegenden Arbeit wegen der damit verbundenen Schwierigkeiten bei der Tierhaltung nicht berücksichtigt.

Auf Grund der Tatsache, daß Strychnin auch an glattemuskuligen Organen einen pharmakodynamischen Effekt zeigt und außerdem nach dem Befund von CZOK und LANG (160) auch der in den galenischen Brechnußzubereitungen in beachtlicher Menge enthaltenen Chlorogensäure eine Darmwirkung zuzuschreiben ist, war dagegen die zusätzliche Heranziehung eines intestinalen Testobjekts von besonderem Interesse. Als solches bot sich der isolierte Kaninchendarm an, der in Form des Dünndarms bereits von LAUBENDER und BALLMAIER (9) zur

vergleichenden pharmakologischen Untersuchung von Reinalkaloiden und galenischen Zubereitungen aus Folia Belladonnae benutzt wurde, wobei gesetzmäßige Abhängigkeiten von Dosis und Wirkung gefunden wurden. Da auch LANGLEY und MAGNUS (10) bei Strychninversuchen am isolierten Kaninchendickdarm einen gewissen Zusammenhang zwischen Dosis und Wirkungsstärke festgestellt hatten, wurden systematische eigene Versuche mit Erfolg dahingehend durchgeführt, eine Methode zur quantitativen Auswertung des Strychnins und Brucins sowohl am isolierten Kaninchendünndarm als auch am isolierten Kaninchendickdarm zu entwickeln. (Beide Methoden werden weiter unten näher beschrieben.)

Damit war die Möglichkeit gegeben, die Wirkung der galenischen Brechnußpräparate mit derjenigen der Reinalkaloide Strychnin und Brucin an drei verschiedenen Testobjekten zu vergleichen: am isolierten Kaninchendünndarm, am isolierten Kaninchendickdarm und am Ganzfrosch.

Die mit dieser Problemstellung verknüpfte spezielle Frage, ob eine pharmakologische Beeinflussung der in den Brechnußgalenika enthaltenen Alkaloide durch die darin außerdem hauptsächlich nachgewiesenen Inhaltsstoffe Chlorogensäure und Loganinsäure erfolgt, wurde nur an den intestinalen Testobjekten untersucht.

I. Isolierter Kaninchendünndarm

1. Methodik

a. Präparation und Versuchsanordnung

Die Untersuchungen am isolierten Kaninchendünndarm wurden in Anlehnung an die bei Belladonnazubereitungen angewandte Methode von LAUBENDER und BALMAIER (9) in ähnlicher Versuchsanordnung wie der bekannten nach MAGNUS (192) durchgeführt.

Im einzelnen wurde dabei wie folgt vorgegangen:

Einem gesunden, mit kohlfreiem Futter ernährten⁺), etwa 2 kg schweren Kaninchen wurden nach Tötung durch Nackenschlag und sofortiger Öffnung der Bauchhöhle sämtliche Eingeweide entnommen und diese in Tyrode-Lösung⁺⁺⁾ von Zimmertemperatur gebracht. Anschließend wurden 8 - 10 cm lange Stücke des Dünndarms⁺⁺⁺⁾ unter gleichzeitiger Entfernung des Mesenteriums herauspräpariert, mehrmals mit frischer Tyrode-Lösung durchgespült, bis sie völlig von Kotresten befreit waren, und dann in Tyrode-Lösung im Kühlschrank bei $+ 7 \pm 1^{\circ}\text{C}$ aufbewahrt. Die so vorrätig gehaltenen Darmpräparate ließen sich innerhalb eines Zeitraums von 30 Stunden nach der Isolierung für die eigentlichen Versuche verwenden.

⁺) Auf die Bedeutung einer gleichmäßigen, vor allem kohlfreien Ernährung der Versuchstiere für eine möglichst konstante Reaktionsweise isolierter Organe haben PEREIRA (195) sowie EICHLER und KREBS (196) hingewiesen. Die eigenen Versuchstiere erhielten stets dasselbe Futter, bestehend aus Hafer, Heu, Rüben und Wasser.

⁺⁺⁾ Physiologische Salzlösung, im folgenden auch "Badflüssigkeit" genannt, die bei Bedarf aus zwei Vorratslösungen folgender Zusammensetzung gemischt wurde:

Lösung I: NaCl 8,0 g; KCl 0,2 g; CaCl_2 0,2 g; MgCl_2 0,1 g;
 H_2O ad 900 ml.

Lösung II: NaHCO_3 1,0 g; NaH_2PO_4 0,05 g; H_2O ad 100 ml.

Zu dieser Mischung wurde noch 1 g Glucose pro Liter gefügt.

⁺⁺⁺⁾ Als Testobjekt wurde das beim ausgewachsenen Kaninchen etwa 220 cm lange Jejunum (203) verwendet.

Die hierfür benutzte Apparatur (Abb. 16) bestand im wesentlichen aus einem Wasserbad (a), in dem sich ein Vorratsgefäß (b) mit Tyrode-Lösung und ein zylindrisches, 50 ml fassendes Glasgefäß (c) zur Aufnahme des Darmstücks (d) befanden. Dieses Glasgefäß war mit drei Ansatzglasrohren versehen, wovon eins dem Tyrode-Zufluß (e), eins dem Tyrode-Abfluß (f) und das dritte der Zufuhr von Luftsaurestoff (g) diente.

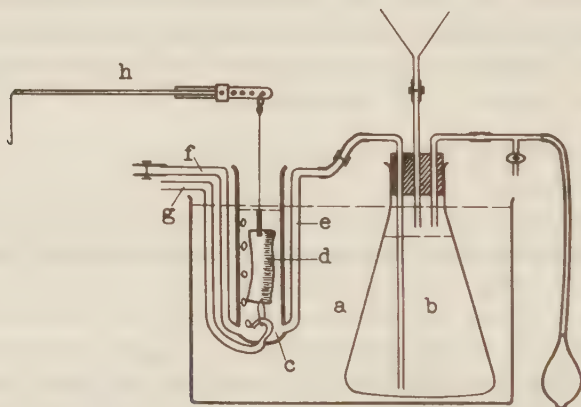


Abb. 16. Eigene Versuchsanordnung zur Registrierung der Längsmuskel-Motilität des isolierten Dünndarms.

Das zur Untersuchung kommende Darmstück von 1,5 - 2 cm Länge wurde in dem mit Tyrode-Lösung gefüllten Glaszylinder so fixiert, daß eine Registrierung der Pendelbewegungen der Längsmuskulatur möglich war. Zu diesem Zweck wurde das eine Darmende (punctum fixum) an dem hakenförmig gebogenen Ende des Luftzufuhrrohres (g) befestigt und das andere Darmende (punctum mobile) durch Fadenführung mit einem doppelarmigen Schreibhebel (h) verbunden, der die Muskelbewegungen des Darms bei stets gleicher Hebelübertragung und Vorspannung isotonisch an einem Ruß-Kymographen registrierte.

Die Umdrehungsgeschwindigkeit der Kymographentrommel betrug jeweils 10 mm/min. Durch die simultan erfolgende elektrische oder mechanische Zeitschreibung wurden Intervalle von 30 sec markiert.

Die zum einwandfreien und gleichmäßigen Funktionieren der Darm-

stücke erforderliche Temperaturkonstanz der Tyrode-Lösung wurde durch thermostatische Regelung des Wasserbads erzielt. Die den einzelnen Versuchen zugrunde gelegten Temperaturstufen betrugen $38 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ bzw. $28 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Die außerdem notwendige Sauerstoffversorgung der Präparate wurde dadurch gewährleistet, daß die Badflüssigkeit mit Hilfe einer Membranpumpe ständig mit Luft durchperlt wurde.

Für alle Darmversuche standen zwei Apparaturen der beschriebenen Art zur Verfügung.

b. Pharmaka-Lösungen und Dosierung

Bei den pharmakologisch zu prüfenden Stoffen bzw. Stoffgemischen handelte es sich vor allem um die zuvor chemisch analysierten Brechnuß-Galenika Extractum und Tinctura Strychni DAB.6 und um die Reinalkaloide Strychnin und Brucin. Da die Untersuchung am biologischen Objekt wässrige Lösungen der betreffenden Substanzen erforderte⁺), wurden die in Wasser schwer löslichen Alkaloidbasen im vorliegenden Fall durch ihre schwefelsauren Salze⁺⁺) ersetzt. Die Berechnung der Lösungskonzentrationen bezog sich jedoch in jedem Fall auf den jeweils entsprechenden Gehalt an reiner Alkaloidbase.

Der in Vorversuchen am isolierten Kaninchendünndarm und -dickdarm ermittelte günstigste Wirkungsbereich des Strychnins lag bei beiden Temperaturstufen (38° und 28°C) zwischen Endkonzentrationen von $5 \cdot 10^{-6}$ und $2 \cdot 10^{-5}$ g/ml Base. Diese Endkonzentrationen entsprachen Dosen von 0,5 - 2 ml einer 0,05%igen Strychninsulfatlösung (berechnet als Strychninbase) pro 50 ml Badflüssigkeit. Da einerseits die Wirksamkeit des in den Brechnuß-Galenika in fast gleicher Menge enthaltenen Brucins wesentlich schwächer ist als

⁺) Äthanol-Konzentrationen ab 0,2% können die Motilität isolierter Darmpräparate beeinflussen (197, 198).

⁺⁺) Zur Anwendung gelangten die Handelspräparate "Strychninum sulfuric. neutr. cryst. Merck", $(\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_2\text{N}_2)_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4 + 5 \text{H}_2\text{O}$, Mol.Gew. 857,01; und "Brucinsulfat purum Arcochemie", $(\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{O}_4\text{N}_2)_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4 + 7 \text{H}_2\text{O}$, Mol.Gew. 1013,15.

die des Strychnins und andererseits der Dosenbereich eine günstige Applikationsweise zuließ, wurden alle Galenika-Lösungen und Reinalkaloid-Modelllösungen auf einen Gesamtalkaloidbasengehalt von 0,1% eingestellt.

Die einzelnen Testlösungen wurden wie folgt bereitet:

Extrakt-Lösung (E)

Für Extractum Strychni wurde ein Gesamtalkaloidgehalt von 14,2 % gefunden (s. S. 65). Zur Herstellung der 0,1% Alkaloidbasen enthaltenden Extrakt-Lösung wurden deshalb 0,742 g Trockenextrakt in einem Meßkolben unter gutem Umschütteln mit bidestilliertem Wasser zu 100 ml gelöst. Diese Lösung wies eine mittelstarke Opaleszenz auf. Nach mehrstündigem Stehen zeigte sich ein bräunlicher Bodensatz, der sich aber bei kräftigem Umschütteln wieder sehr fein in der übrigen Lösung suspendieren ließ, so daß bei der Anwendung die erforderliche Homogenität der Extrakt-Lösung gewahrt war.

Tinktur-Lösung (T)

Der Gesamtalkaloidgehalt der Tinctura Strychni betrug 0,22 %. Da bei einfacher Verdünnung der Tinktur mit Wasser auf einen Gehalt von 0,1% Alkaloidbasen der Äthanolgehalt dieser Lösung noch 29,5% betragen hätte (vgl. Tab. 1, S. 26) und damit einen zusätzlichen pharmakologischen Effekt bewirkt hätte, wurde die Tinktur zunächst bei max. 37°C im Vakuum auf 1/5 ihres Volumens eingeeengt und erst dann mit bidestilliertem Wasser verdünnt. Für 100 ml Tinktur-Lösung von 0,1% Gesamtalkaloidgehalt waren dabei 45,5 g Tinctura Strychni als Ausgangsmenge erforderlich. Die Opaleszenz dieser nahezu äthanolfreien Lösung hatte dieselbe Stärke wie die der Extrakt-Lösung. Die Neigung zur Abscheidung eines ebenfalls bräunlichen Sediments war etwas größer; der Bodensatz konnte aber ebenso gut wie beim Extrakt für die Anwendung suspendiert werden.

Reinalkaloid-Modelllösungen (RE) und (RT)

Die oben näher bezeichneten Handelspräparate Strychninsulfat und Brucinsulfat wurden zunächst adsorptionschromatographisch nach der Ph. Dan. 1948 auf ihre Reinheit geprüft (s. auch Lit.-Stelle 119, S. 13). Beide Präparate erwiesen sich dabei als einwandfrei.

Die Lösungen der nichtalkaloidischen Inhaltsstoffe Chlorogensäure und Loganin wurden wie folgt zubereitet und angewandt:

Chlorogensäure-Lösungen (C)

Zur Untersuchung der Chlorogensäurewirkung am isolierten Kaninchendarm wurden steigende Konzentrationen an Chlorogensäure von 10^{-6} bis 10^{-2} g/ml gewählt. Die sich um je eine Zehnerpotenz unterscheidenden Endkonzentrationen wurden durch Zugabe der aus Tab. 15 ersichtlichen wässrigen Chlorogensäure-Lösungen zu je 50 ml Badflüssigkeit erhalten.

Tabelle 15. Chlorogensäurekonzentrationen und pH-Werte der wässrigen Lösungen und der Badflüssigkeit.

Gewünschte Chlorogen- säurekonz. der Badfl. (g/ml)	Zugegebene Chlorogensäure- lösung in bidest. Wasser			pH-Wert der Badfl. nach Chlorogensäure- zugabe
	Konz.(%)	pH	ml	
10^{-6}	0,005	5,2	1	7,4
10^{-5}	0,05	4,2	1	7,4
10^{-4}	0,5	3,2	1	7,4
10^{-3}	2,5	< 3	2	7,2
10^{-2}	10,0	< 2	5	3,8 !

(Anmerkung: Die pH-Werte wurden mit Spezial-Indikatorpapier Merck bestimmt.)

Da sich die Chlorogensäure in Wasser von 37°C (Badtemperatur) nur bis zu einer Konzentration von ca. 4 % ohne Schwierigkeit lösen läßt (38), mußte die Konzentrationsstufe von 10 % als teilweise Suspension angewandt werden. Wie Tab. 15 zeigt, hatte die Zugabe dieser 10 % igen Chlorogensäure-Lösung einen pH-Sprung der Badflüssigkeit von pH 7,4 (normal) auf pH 3,8 und damit einen zusätzlichen Säureeffekt auf das Darmpräparat zur Folge. Dieser Effekt, der, wie später beschrieben, die echte Chlorogensäurewirkung völlig überdeckte, wurde dadurch ausgeschaltet, daß statt der 10 % igen

Lösung der reinen Chlorogensäure eine entsprechend starke Lösung ihres Natriumsalzes, hergestellt aus stöchiometrischen Mengen von Chlorogensäure und Natriumhydroxyd, zur Badflüssigkeit gegeben wurde.

Auf Grund der schwachen Basizität der Badflüssigkeit (pH 7,4) war es unvermeidlich, daß die Chlorogensäure beim Einbringen ihrer Lösungen in dieses Milieu in die sogenannte "Viridinsäure" (155) - erkennbar an dem grünen Farbton, den die Badflüssigkeit dadurch annimmt - umgewandelt wurde.

Loganin-Lösung (L)

Da die in beiden galenischen Vergleichspräparaten nachgewiesene Loganinsäure für die pharmakologische Untersuchung in reiner Form nicht zur Verfügung stand, wurde stattdessen anhand des reinen Loganins (s. S. 44) geprüft, ob durch diesen Inhaltsstoff von *Strychnos nux vomica* eine Beeinflussung des pharmakodynamischen Effekts der Brechnußalkaloide am isolierten Kaninchendarm eintritt.

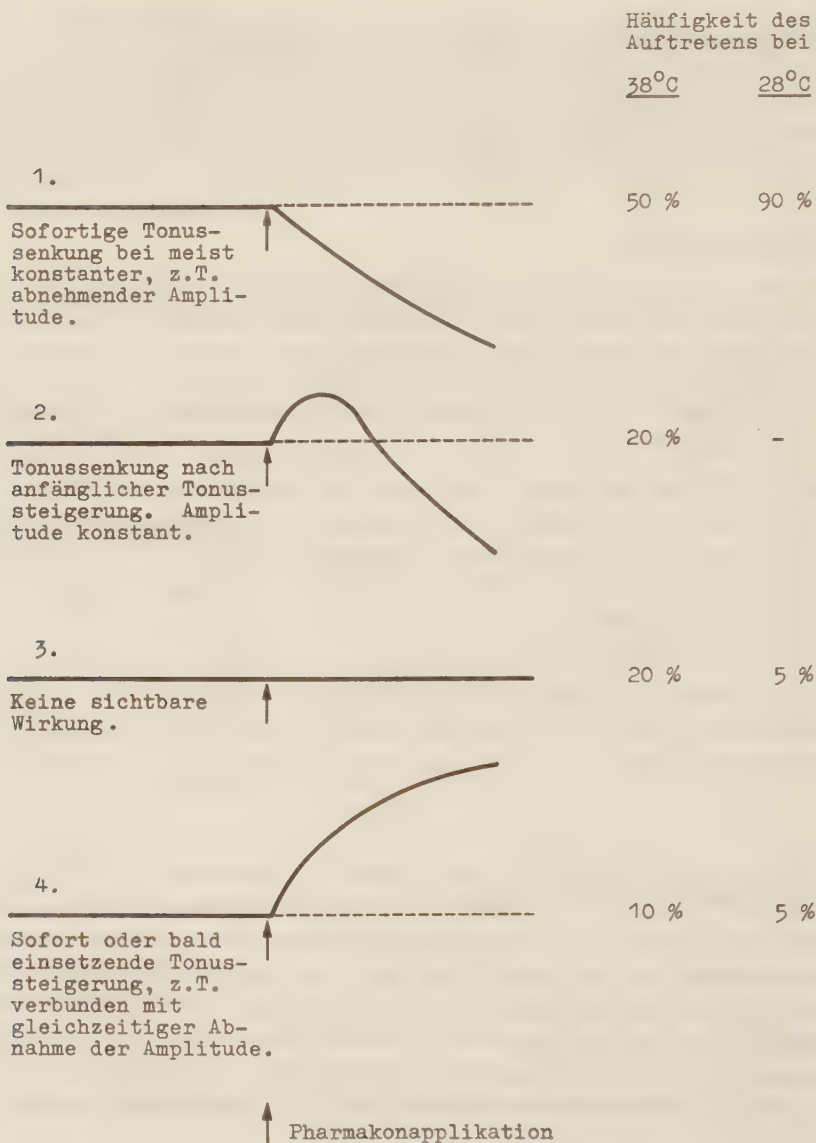
Wegen der sehr geringen Wirksamkeit des Loganins wurde nur eine 10%ige Lösung von Loganin in bidestilliertem Wasser hergestellt. Von dieser Lösung wurden Mengen zwischen 0,5 und 5 ml zur Badflüssigkeit gegeben, so daß Endkonzentrationen an Loganin von 10^{-3} bis 10^{-2} g/ml zur Anwendung gelangten.

Die 10%ige wässrige Loganin-Lösung, die eine nahezu gesättigte Lösung darstellte, hatte einen pH von 5,2 und veränderte, auch beim Zusatz von 5 ml, den normalen pH-Wert der Badflüssigkeit (7,4) nicht.

c. Pharmakologische Analyse

Wie auch aus der Arbeit von INOKUTI (11) hervorgeht, läßt sich die Erscheinungsform der Strychninwirkung am isolierten Kaninchendünndarm auf keinen einheitlichen Nenner bringen. In den eigenen Versuchen wurde ebenfalls gefunden, daß Strychnin alle möglichen Wirkungen von einer mehr oder minder starken Tonussenkung bis zu einer spastischen Tonuserhöhung hervorrufen kann. Die verschiedenen

Abb. 17. Schematische Darstellung der 4 Haupterscheinungsformen der Strychninwirkung auf die Pendelbewegung des isolierten Kaninchendünndarms (Jejunum-Längsmuskulatur) mit Angabe der Häufigkeit ihres Auftretens bei 38° und 28°C.



Wirkungsarten sind aber nicht von der Konzentration des Pharmakons, sondern anscheinend von der Kondition des jeweils verwendeten Darmpräparats abhängig.

Die in zahlreichen Modellversuchen mit gleichen Dosen Strychninsulfat registrierten Strychninwirkungen am isolierten Kaninchendünndarm lassen sich in 4 Typen zusammenfassen, die nebenstehend schematisch dargestellt sind (Abb. 17). Die Häufigkeit ihres Auftretens im Konzentrationsbereich von 0,25 bis 1 mg / 50 ml Strychninbase (entsprechend den weiter oben genannten Gesamtalkaloidkonzentrationen) ist temperaturabhängig. Während bei der normalen Badtemperatur von 38°C die tonussenkende Wirkung des Strychnins mit 50% vorherrscht, wird das Übergewicht dieser Wirkungsart bei einer Temperatur von 28°C noch größer (90%) (s. Abb. 17).

Es schien deshalb zweckmäßig, für den pharmakologischen Vergleich nur solche Darmpräparate zu verwenden, an denen sich der pharmakodynamische Effekt des Strychnins in Form einer Tonussenkung äußerte (Abb. 17, Beispiel Nr. 1). Diese Darmpräparate erwiesen sich auch hinsichtlich einer quantitativen Untersuchung als geeignet.

Der Konzentrationsbereich, in dem eine quantitative Abhängigkeit zwischen Dosis und Wirkung dieser Lösungen festgestellt werden konnte, war sehr eng begrenzt; er lag zwischen 0,5 und 2 mg Gesamtalkaloide pro 50 ml Badflüssigkeit. Konzentrationen unterhalb dieses Bereichs riefen kaum eine Wirkung hervor, darüber liegende Konzentrationen führten zu mehr oder weniger stark ausgebildeten Lähmungserscheinungen des Dünndarms.

Beim Wirkungsvergleich⁺) wurden die verschiedenen je 0,1% Gesamtalkaloide enthaltenden Testlösungen in je 3 Konzentrationsstufen (0,5 - 1 - 2 mg / 50 ml) teils in steigender, teils in fallender Dosenfolge zur Badflüssigkeit gegeben, und zwar im Wechsel: Reinalkaloide gegen Extrakt oder Reinalkaloide gegen Tinktur.

⁺) Das für den Versuch in der auf S. 100 abgebildeten Apparatur frisch suspendierte Darmstück wurde zunächst unter Normalbedingungen so lange sich selbst überlassen, bis die Pendelbewegungen einen gleichmäßigen Rhythmus angenommen hatten. Erst dann erfolgte die erste Pharmakonapplikation zur Austestung der Reaktionstendenz und anschließend - wenn das Präparat zu Tonussenkung neigte - die Applikationen der Vergleichslösungen.

Nach Applikation jeder Dosis wurde die Wirkung während eines Zeitraums von 4-5 Minuten registriert, danach das Pharmakon mit 5 x 50 ml frischer Tyrode-Lösung ausgespült und für den Darm eine Pause von 15-20 Minuten unter Normalbedingungen eingelegt. Dieses Erholungsschema war erforderlich, um den Tonus der Darmstücke wieder zu normalisieren und eine Nachwirkung der vorangegangenen Pharmakonapplikation auszuschalten.

Als Vergleichsmaßstab für den verschiedenen Grad der tonussenkenden Wirkung der einzelnen alkaloidhaltigen Testlösungen wurde der Tonusabfall pro Zeiteinheit gewählt. Ein exakter zahlenmäßiger Ausdruck hierfür wurde anhand der Rußkurven erhalten durch den Quotienten aus dem senkrechten Abstand der innerhalb eines bestimmten Zeitraums (4-5 min) nach der Pharmakonapplikation eingetretenen Entfernung der Fußpunktlinie von der Ausgangspunktgrundlinie (in mm) und aus der entsprechenden Einwirkungszeit des Pharmakons (in min).

Da die Umdrehungsgeschwindigkeit der Kymographentrommeln stets konstant gehalten wurde (10 mm/min), konnte der Wirkungsgrad auch geometrisch bestimmt werden (s. Abb. 18).

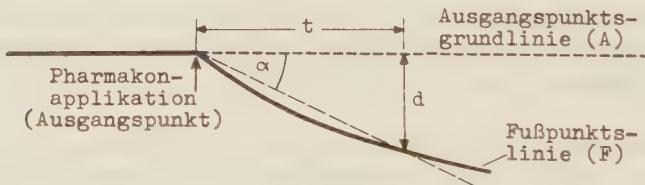


Abb. 18. Schema zur quantitativen Auswertung der Strychninwirkung am isolierten Kaninchendünndarm.

Bei Konstruktion eines rechtwinkligen Dreiecks aus

- t = Einwirkungszeit des Pharmakons (1 min = 10 mm) und
- d = Tonusabfall (senkrechter Abstand F von A in mm)

ließ sich dann der Wirkungsgrad als $\text{tg } \alpha$ ausdrücken.

Unter den genannten Bedingungen ergibt sich hieraus die Beziehung

$$\text{Grad der Tonussenkung} = \frac{\text{Tonusabfall}}{\text{Zeit}} \frac{d}{t} = \text{tg} \alpha \text{ } ^+).$$

Die relative Wirksamkeit von galenischem Präparat zur entsprechenden Reinalkaloidmischung wurde zahlenmäßig durch den Senkungsquotienten

$$Q_s = \frac{\text{tg} \alpha \text{ Galenisches Präparat}}{\text{tg} \alpha \text{ Reinalkaloidmischung}}$$

ausgedrückt. Dieser Quotient, der das Verhältnis der bei gleichen Alkaloidkonzentrationen von Galenikum und Reinalkaloiden bewirkten Tonussenkungen wiedergibt, mußte für den Fall der Wirkungsgleichheit den durchschnittlichen Wert 1 annehmen.

Da die Untersuchungen von LAUBENDER und BALLMAIER (9) gezeigt hatten, daß die bei 37°C nachgewiesenen Wirkungsunterschiede zwischen Galenika und Reinalkaloiden aus Folia Belladonnae bei 27°C sich teilweise bedeutend vergrößerten, wurden auch die entsprechenden eigenen Untersuchungen bei den gleichen zwei Temperaturstufen in folgender Weise durchgeführt:

Zu jedem Darmpräparat, das sich im Vorversuch als brauchbar erwiesen hatte, wurden zunächst die 3 genannten Dosen von Galenikum und Reinalkaloidgemisch in unmittelbar alternierender Folge bei 38°C gegeben. Nach dem Auswaschen der letzten dieser 6 Dosen wurde durch Austausch des Badwassers und Neuregulierung des Thermostaten die Versuchstemperatur auf 28°C eingestellt. Hatte sich dann das

⁺) Diese Beziehung, nachstehend auch kurz als Tonussenkung bezeichnet, stellt nicht, wie es den Anschein erwecken könnte, ein Maß für die Geschwindigkeit des hier geprüften pharmakodynamischen Effekts dar, sondern ist ein Maß für die Wirkungsstärke der Alkaloidlösungen. Für einen Vergleich der Wirkungsgeschwindigkeiten wären im vorliegenden Fall nur die von der Pharmakapplikation bis d/2 verstreichenden Zeiten (sog. Halbzeiten) in Frage gekommen. Wegen der erheblichen Streuungen, die sich hierbei auf Grund sehr unterschiedlicher Krümmungen der Fußpunktskurven ergaben, wurde jedoch auf eine Auswertung dieses Kriteriums verzichtet.

Testobjekt etwa 1/2 Stunde an diese Temperatur gewöhnt, so kamen die zu vergleichenden Pharmaka wie bei 38°C zur Anwendung. - Diese Anordnung besaß gegenüber anderen (z.B. erst tiefere und dann höhere Temperaturstufe oder ständiges Wechseln der Temperatur nach den einzelnen Dosen) den Vorteil, daß sie die längste Überlebensdauer der isolierten Darmstücke im Versuch gewährleistete.

Die Heranziehung der zweiten Temperaturstufe machte nicht nur einen zusätzlichen Vergleich wie bei der Ausgangstemperatur möglich, sondern es konnte dadurch auch aus der Beziehung

$$\frac{\text{tg} \alpha_{28^{\circ}}}{\text{tg} \alpha_{38^{\circ}}} = k_s$$

für jede einzelne Lösung der ihr eigene Temperaturkoeffizient der Tonussenkung (k_s) berechnet werden, der als weiterer zahlenmäßiger Ausdruck zur Gegenüberstellung von Reinalkaloid- und Galenikumwirkung diene.

Zur Beantwortung der Frage, ob die in Samen Strychni vorkommenden nichtalkaloidischen Inhaltsstoffe Chlorogensäure und Loganin einen Einfluß auf die pharmakologische Wirkung der Brechnußalkaloide am isolierten Kaninchendünndarm ausüben und für einen eventuellen Wirkungsunterschied zwischen den Brechnuß-Galenika und den Brechnuß-Reinalkaloiden verantwortlich gemacht werden können, wurden zunächst die weiter oben beschriebenen Testlösungen dieser Substanzen auf ihre Eigenwirkung untersucht. Dosen dieser Lösungen, die eine Wirkung hervorriefen, wurden anschließend in Kombination mit wirksamen Strychninsulfatdosen zu den Darmpräparaten gegeben und die dabei registrierten Wirkungsbilder mit den durch gleiche Dosen reinen Strychninsulfats an denselben Präparaten erhaltenen Wirkungsbildern verglichen. - Diese Vergleiche hatten nur orientierenden Charakter und wurden deshalb ausschließlich bei der Badtemperatur von 38°C vorgenommen.

2. Versuchsergebnisse

a. Extractum Strychni

Die nach der beschriebenen Methodik erhaltenen Versuchsergebnisse sind in Tab. 16 zusammengestellt und in Abb. 19 durch die entsprechenden Dosis-Wirkungs-Kurven veranschaulicht.

Wie daraus hervorgeht, zeigen bei der physiologischen Temperatur von 38°C sowohl die Reinalkaloidlösung RE als auch die Extraktlösung E im Konzentrationsbereich von 0,5 bis 2 mg Gesamtalkaloide pro 50 ml Badflüssigkeit den gleichen gesetzmäßigen Zusammenhang zwischen Dosis und Wirkung: Je höher die Konzentration des Pharmakons ist, desto stärker ist der Grad der Tonussenkung.

Ein qualitativer Unterschied zwischen den Wirkungsbildern von RE und E konnte nicht beobachtet werden. Dagegen tritt zwischen den Wirkungen beider Lösungen ein deutlicher quantitativer Unterschied zutage. Dieser Unterschied besteht darin, daß die Extraktlösung - von wenigen Ausnahmen abgesehen - in der Regel bei allen drei Konzentrationsstufen eine beträchtlich stärkere tonussenkende Wirkung entfaltet als die Reinalkaloidlösung. Die den einzelnen Konzentrationsstufen zugehörigen Senkungsquotienten scheinen Streuwerte um einen Mittelwert darzustellen, da sie keinen Gang nach der einen oder anderen Richtung aufweisen. Dieser bei 38°C erhaltene mittlere Senkungsquotient Q_g für Extractum Strychni beträgt 2,10, d.h. bei gleichen Alkaloidkonzentrationen bewirkt der Extrakt eine etwa doppelt so große Tonussenkung wie das entsprechende Reinalkaloidgemisch.

Analog den Versuchen von LAUBENDER und BALLMAIER (9) wurden sämtliche eigenen Wirkungsvergleiche auch bei der tieferen Temperatur von 28°C durchgeführt, um dadurch möglicherweise zusätzliche Anhaltspunkte für einen Wirkungsunterschied zu erhalten.

Beim Vergleich der bei 38°C und 28°C an denselben Darmstücken erhaltenen Werte für $tg\alpha$ (vgl. Tab. 16) fällt zunächst eine starke Streuung auf, d.h. es finden sich ebenso Darmstücke, deren Reaktion

auf die Alkaloidlösung bei 28°C stärker ist als bei 38°C , wie es Darmstücke gibt, die bei 28°C umgekehrt eine schwächere Tonussenkung aufweisen als bei 38°C . Insgesamt überwiegt die erstere Erscheinung.

Die durchschnittlich stärkere Wirksamkeit bei 28°C gegenüber 38°C überrascht insofern, als nach den allgemeinen Erkenntnissen der Pharmakologie Temperaturerniedrigung meist eine Hemmung der Reaktion (zumindest der Reaktionsgeschwindigkeit) zur Folge hat. Da es sich jedoch hier um den besonderen Fall einer tonussenkenden Wirkung handelt, gibt das normale physiologische Verhalten des Testobjekts eine Deutung obigen Phänomens. Dieses Verhalten besteht darin, daß der überlebende Kaninchendünndarm bei 28°C von selbst zu einem höheren Tonus neigt als bei 38°C . Damit haben aber bei der tieferen Temperatur tonussenkende Pharmaka die Möglichkeit, den durch Abkühlung gesteigerten Spannungszustand des Darmpräparats in stärkerem Maße herabzusetzen als bei der höheren Temperatur.

Zu einer weiteren Erklärung für den wirkungssteigernden Einfluß der tieferen Temperatur im vorliegenden Fall trägt das prozentual sehr unterschiedliche Reagieren des überlebenden Dünndarms auf Strychnin bei 38° und 28°C bei. Wie aus dem in Abb. 17 gebrachten Schema hervorgeht, reagierte bei 38°C nur die Hälfte aller untersuchten Darmstücke mit Tonussenkung, während bei 28°C fast alle Präparate (90%) diesen Effekt zeigten. Aus diesem Grund wirkte sich die Temperaturerniedrigung auch besonders bei solchen Darmstücken in Richtung einer stärkeren Tonusabnahme aus, die bei 38°C - etwa entsprechend dem Reaktionstyp Nr. 3 - nach Pharmakonapplikation nur ganz geringfügig ihren Tonus senkten.

Aus diesen Verhältnissen erklären sich wohl die aus Tab. 16 ersichtlichen starken Streuungen der Versuchsergebnisse.

Trotzdem führte die Temperaturerniedrigung in der vorliegenden Arbeit am Dünndarm zu drei bemerkenswerten Ergebnissen:

1. Die sowohl von der Extraktlösung E als auch von der Reinalkaloidlösung RE bei 28°C ebenfalls bewirkte Tonussenkung erfährt bei beiden Pharmaka im Mittel eine Intensivierung gegenüber der bei 38°C hervorgerufenen Tonussenkung (s. auch Abb. 20).

2. Auch bei der tieferen Temperaturstufe überwiegt die Wirksamkeit des Extrakts diejenige der Reinalkaloide. Der bei 28°C ermittelte mittlere Senkungsquotient Q_s für Extractum Strychni (1,77) ist jedoch kleiner als derjenige bei 38°C (2,10).

3. Aus dieser Feststellung folgt, daß auch der für die Extraktlösung berechnete Temperaturkoeffizient der Tonussenkung (k_s), der sich aus dem Verhältnis $tg\alpha_{28^\circ} : tg\alpha_{38^\circ}$ ergibt, kleiner ist als derjenige der Reinalkaloidlösung. Die mittleren Temperaturkoeffizienten (Mittelwerte aus den für jede Dosis berechneten Koeffizienten) von RE und E verhalten sich wie 1,44 : 1,15 oder wie 1 : 0,80.

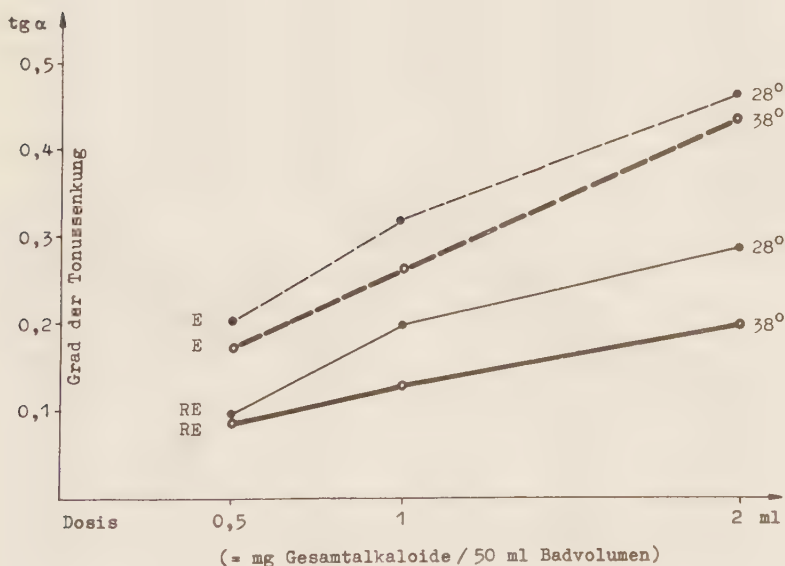


Abb. 19. Dosis-Wirkungs-Kurven von Extraktlösung E und Reinalkaloidlösung RE. Isolierter Kaninchendünndarm.

Tabelle 16. Wirkungsvergleich zwischen Extractum Strychni (E) und Reinalkaloidgemisch (RE) am isolierten Kaninchendünndarm. (Dosierung entspr. 0,5 - 1 - 2 mg Gesamtalkaloide / 50 ml Badvol.)

Darm Nr.	0,5		1		2	
	RE	E	RE	E	RE	E
	Grad der Tonussenkung bei 38°C ($\text{tg } \alpha$):					
15/3	0,237	0,487	0,375	0,675	0,163	0,988
16/1	0,089	0,122	0,078	0,089	0,033	0,111
16/7	0,228	0,443	0,200	0,743	0,500	1,000
17/2	0,222	0,244	0,189	0,300	0,322	0,655
17/4	0,000	0,571	0,456	0,685	0,912	1,510
18/6	0,000	0,000	0,000	0,033	0,000	0,083
19/2	0,000	0,000	0,000	0,013	0,000	0,025
19/5	0,000	0,013	0,000	0,025	0,000	0,138
20/4	0,000	0,000	0,038	0,188	0,275	0,350
20/6	0,070	0,070	0,040	0,060	0,060	0,120
22/2	0,020	0,020	0,030	0,040	0,040	0,060
22/6	0,020	0,030	0,033	0,040	0,040	0,080
23/2	0,230	0,300	0,290	0,430	0,310	0,440
23/4	0,000	0,075	0,000	0,200	0,188	0,375
24/2	0,120	0,200	0,210	0,510	0,260	0,780
24/4	0,150	0,240	0,180	0,330	0,200	0,510
24/5	0,030	0,100	0,050	0,080	0,100	0,240
Mittelwert	0,083	0,172	0,128	0,261	0,200	0,439
Q_s	2,07		2,04		2,20	
	Grad der Tonussenkung bei 28°C ($\text{tg } \alpha$):					
15/3	0,050	0,160	0,100	0,270	0,170	0,250
16/1	0,145	0,167	0,211	0,377	0,267	0,400
16/7	0,086	0,200	0,328	0,428	0,443	0,785
17/2	0,111	0,200	0,133	0,311	0,277	0,388
17/4	0,100	0,286	0,315	0,500	0,543	0,643
18/6	0,150	0,183	0,167	0,183	0,367	0,700
19/2	0,100	0,225	0,200	0,213	0,275	0,400
19/5	0,113	0,238	0,300	0,250	0,225	0,313
20/4	0,125	0,138	0,175	0,225	0,313	0,388
20/6	0,000	0,410	0,230	0,520	0,280	0,600
22/2	0,050	0,090	0,060	0,120	0,100	0,210
22/6	0,070	0,240	0,100	0,360	0,144	0,460
23/2	0,170	0,230	0,300	0,370	0,300	0,570
23/4	0,062	0,150	0,200	0,250	0,175	0,375
24/2	0,140	0,320	0,220	0,410	0,310	0,340
24/4	0,110	0,110	0,240	0,440	0,460	0,660
24/5	0,060	0,090	0,080	0,200	0,220	0,410
Mittelwert	0,097	0,202	0,198	0,319	0,287	0,464
Q_s	2,08		1,61		1,62	
k_s	1,17	1,18	1,70	1,22	1,44	1,06

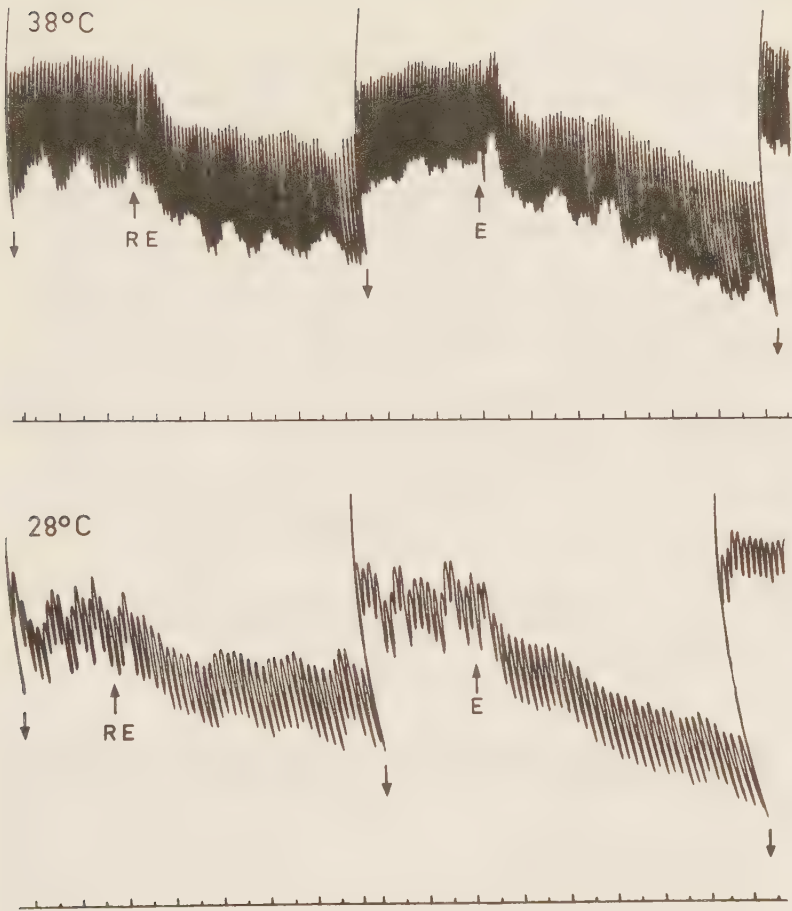


Abb. 20. Wirkung von Extraktlösung E und Reinalkaloidlösung RE am isolierten Kaninchendünndarm nach MAGNUS bei 38° C und 28° C. Registrierung der Längsmuskel-Motilität.

↑ : Jeweils 1 ml, Gesamtalkaloid-Endkonzentration 1 : 50 000 .
↓ : Auswaschen.

Aus drucktechnischen Gründen sind die Abbildungen der eigenen Rußkurven im Negativ wiedergegeben.

b. Tinctura Strychni

Der Wirkungsvergleich zwischen der Reinalkaloidlösung RT und der Tinkturlösung T, dessen Ergebnisse in Tab. 17 zusammengestellt und in Abb. 21 durch analoge Dosis-Wirkungs-Kurven veranschaulicht sind, führte in allen wesentlichen Punkten prinzipiell zu demselben Resultat wie der Wirkungsvergleich zwischen der Reinalkaloidlösung RE und der Extraktlösung E:

1. Hier wie dort besteht bei den entsprechenden Lösungen derselbe gesetzmäßige Zusammenhang zwischen Dosis und Wirkung.
2. Hier wie dort überwiegt sowohl bei 38°C als auch bei 28°C die tonussenkende Wirkung des Galenikums diejenige der Reinalkaloidmischung (s. auch Abb. 22).
3. Hier wie dort ist der mittlere Senkungsquotient Q_s des Galenikums bei 38°C größer (1,64) als bei 28°C (1,50).
4. Hier wie dort ist der mittlere Temperaturkoeffizient der Tonusenkung (k_s) beim Galenikum kleiner (1,65) als bei der Reinalkaloidmischung (1,80).

Sämtliche Wirkungsunterschiede sind jedoch bei der Tinktur schwächer als beim Extrakt. Einerseits betragen die mittleren Senkungsquotienten für Extractum Strychni 2,10 bei 38°C und 1,77 bei 28°C , für Tinctura Strychni dagegen 1,64 bzw. 1,50. Andererseits verhalten sich die mittleren Temperaturkoeffizienten von Reinalkaloidgemisch und Galenikum beim Extraktvergleich wie 1 : 0,80, beim Tinkturvergleich dagegen wie 1 : 0,92.

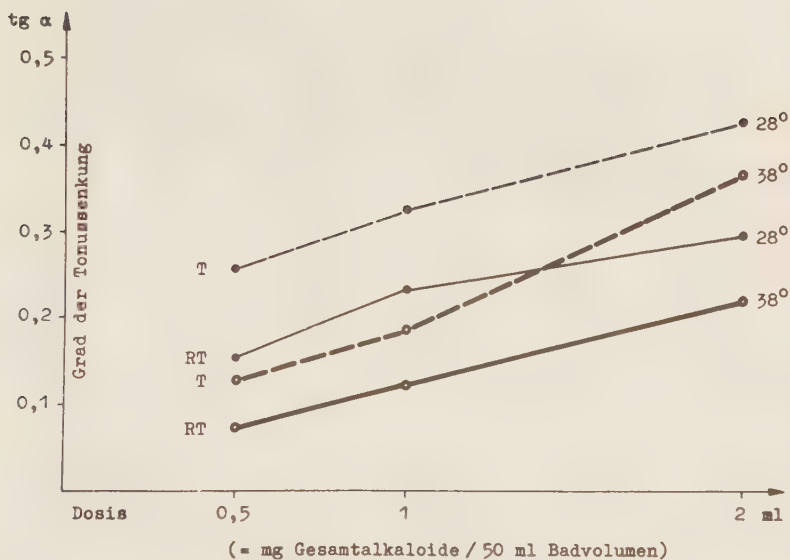


Abb. 21. Dosis-Wirkungs-Kurven von Tinkurlösung T und Reinalkaloidlösung RT. Isolierter Kaninchendünndarm.

Tabelle 17. Wirkungsvergleich zwischen Tinctura Strychni (T) und Reinalkaloidgemisch (RT) am isolierten Kaninchendünndarm. (Dosierung entspr. 0,5 - 1 - 2 mg Gesamtalkaloide / 50 ml Badvol.)

Darm Nr.	0,5		1		2	
	RT	T	RT	T	RT	T
	Grad der Tonussenkung bei <u>38°C</u> (tgα):					
15/2	0,065	0,111	0,060	0,070	0,044	0,078
15/4	0,163	0,563	0,600	0,775	0,910	1,000
16/2	0,000	0,044	0,000	0,044	0,067	0,078
16/6	0,100	0,200	0,257	0,214	0,272	0,400
17/1	0,078	0,136	0,111	0,311	0,211	0,333
17/3	0,243	0,371	0,314	0,457	0,500	0,928
19/1	0,010	0,020	0,000	0,020	0,010	0,030
19/3	0,000	0,025	0,013	0,038	0,138	0,663
19/8	0,030	0,010	0,020	0,020	0,000	0,040
20/3	0,020	0,030	0,020	0,040	0,550	0,717
20/5	0,213	0,188	0,138	0,225	0,225	0,175
22/1	0,088	0,075	0,100	0,125	0,100	0,138
22/5	0,000	0,013	0,000	0,013	0,025	0,013
23/3	0,088	0,175	0,188	0,275	0,200	0,388
24/1	0,063	0,125	0,075	0,150	0,213	0,450
24/3	0,010	0,020	0,010	0,030	0,050	0,190
24/6	0,070	0,070	0,190	0,360	0,290	0,690
Mittelwert	0,073	0,128	0,123	0,186	0,224	0,371
Q _s	1,76		1,51		1,66	
	Grad der Tonussenkung bei <u>28°C</u> (tgα):					
15/2	0,530	0,558	0,475	0,525	0,483	0,533
15/4	0,138	0,175	0,463	0,325	0,488	0,538
16/2	0,000	0,167	0,033	0,156	0,044	0,111
16/6	0,057	0,328	0,129	0,372	0,600	0,771
17/1	0,178	0,244	0,278	0,378	0,355	0,445
17/3	0,114	0,371	0,228	0,471	0,471	0,643
19/1	0,220	0,210	0,260	0,250	0,230	0,290
19/3	0,063	0,325	0,150	0,238	0,188	0,350
19/8	0,050	0,120	0,080	0,210	0,120	0,240
20/3	0,380	0,550	0,530	0,600	0,517	0,567
20/5	0,438	0,463	0,463	0,700	0,525	0,763
22/1	0,075	0,100	0,125	0,150	0,113	0,325
22/5	0,050	0,070	0,063	0,125	0,113	0,188
23/3	0,088	0,175	0,188	0,213	0,213	0,213
24/1	0,075	0,175	0,200	0,288	0,288	0,563
24/3	0,080	0,240	0,160	0,350	0,200	0,490
24/6	0,110	0,120	0,140	0,200	0,170	0,320
Mittelwert	0,156	0,258	0,233	0,327	0,301	0,432
Q _s	1,66		1,40		1,44	
k _s	2,14	2,02	1,90	1,76	1,35	1,16

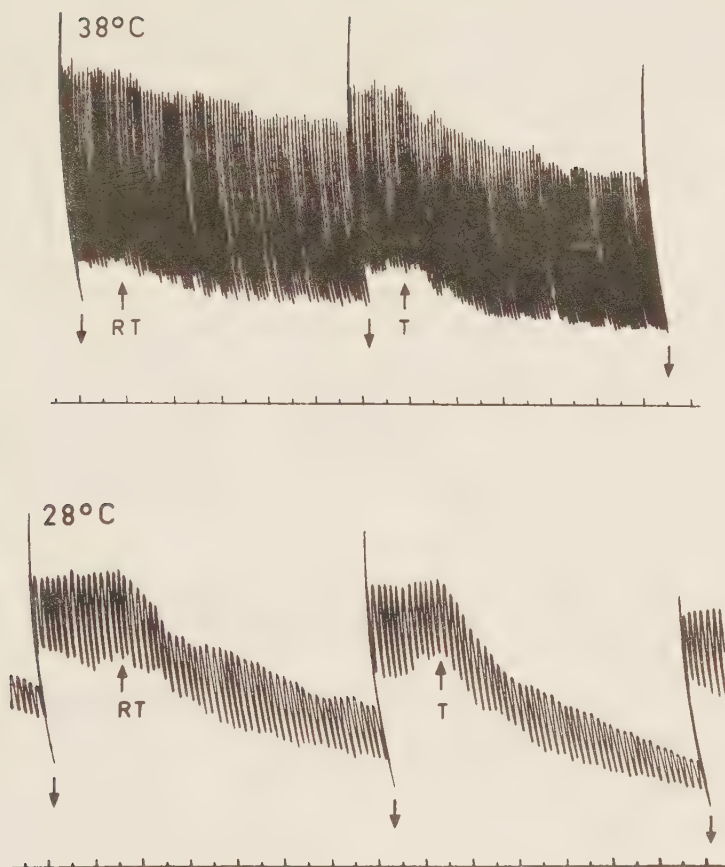


Abb. 22. Wirkung von Tinkurlösung T und Reinalkaloidlösung RT am isolierten Kaninchendünndarm nach MAGNUS bei 38°C und 28°C. Registrierung der Längsmuskel-Motilität.

↑ : Jeweils 1 ml, Gesamtalkaloid-Endkonzentration 1 : 50 000 .
↓ : Auswaschen.

c. Strychnin - Brucin

Da sich die den beiden Galenikalösungen E und T entsprechenden Reinalkaloidlösungen RE und RT nur unwesentlich in ihrer prozentualen Zusammensetzung an Strychnin und Brucin unterscheiden, wäre zu erwarten gewesen, daß auch die Temperaturkoeffizienten dieser Lösungen kaum einen Unterschied aufwiesen. Wie jedoch der Vergleich der Tab. 16 u. 17 zeigt, besitzt die Lösung RE einen Temperaturkoeffizienten von 1,44, die Lösung RT aber einen solchen von 1,80.

Zur Klärung der Frage, ob diese Differenz durch ein sehr unterschiedliches Verhalten von Strychnin und Brucin oder dadurch bedingt ist, daß für den Extraktvergleich andere Darmpräparate zur Anwendung gelangen mußten als für den Tinkturvergleich, wurden zusätzlich die Einzelwirkungen beider Reinalkaloide mit Hilfe von Strychninsulfat- bzw. Brucinsulfatlösungen in derselben Weise wie bei den Galenikavergleichen untersucht. Diese Versuche, die an 6 Darmstücken durchgeführt wurden, hatten folgendes Ergebnis (siehe auch Abb. 23) :

1. Strychnin und Brucin zeigen am isolierten Kaninchendünndarm bei 38° und 28°C denselben gesetzmäßigen Zusammenhang zwischen Dosis und Wirkung.
2. Bei gleichen Alkaloidkonzentrationen ist die Tonussenkung durch Strychnin in beiden Temperaturstufen durchschnittlich etwa 20% stärker als die durch Brucin.
3. Der Temperaturkoeffizient beider Alkaloide ist nahezu gleich.

Daraus kann geschlossen werden, daß der Unterschied zwischen den Temperaturkoeffizienten der Reinalkaloidlösungen RE und RT nicht durch die quantitativ nur wenig voneinander abweichende Zusammensetzung dieser Lösungen, sondern durch das verschiedene Darmmaterial zustande kam.

Wie die Tab. 16 u. 17 zeigen, ist die Reaktion der einzelnen Darmstücke tatsächlich großen Schwankungen unterworfen. Um dadurch

mögliche falsche Schlußfolgerungen zu verhindern, wurde sowohl beim Vergleich Reinalkaloide gegen Extrakt als auch beim Vergleich Reinalkaloide gegen Tinktur jeder einzelne Vergleich an demselben Darmstück durchgeführt. Die für die relative Wirksamkeit maßgeblichen Resultate sind also nicht durch eine verschiedene individuelle Empfindlichkeit des Testobjekts belastet, sondern stellen den Ausdruck eines echten Unterschieds zwischen Galenikum und entsprechendem Reinalkaloidgemisch dar.

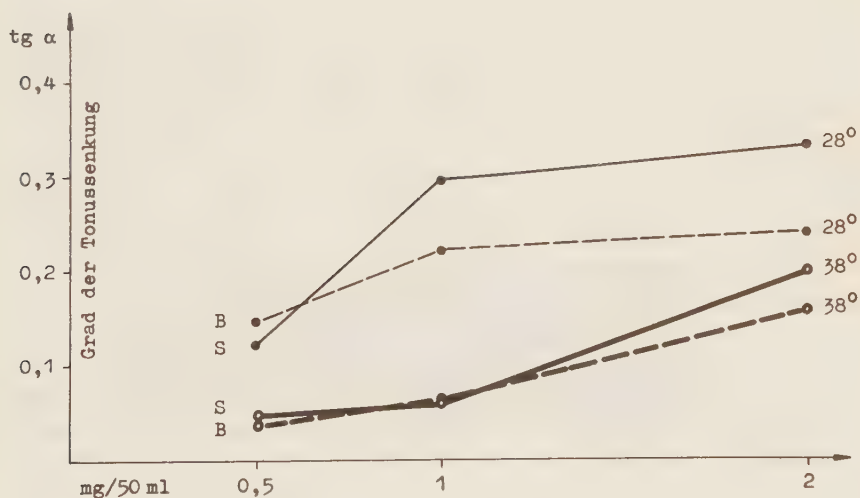


Abb. 23. Dosis-Wirkungs-Kurven von Strychnin (S) und Brucin (B), angewandt in Form der Sulfate. Isolierter Kaninchendünndarm.

d. Chlorogensäure

Die mit reiner Chlorogensäure bei 38°C durchgeführten Versuche ergaben, daß dieser Inhaltsstoff der Brechnuß-Galenika eine eigene, spezifische Wirkung am überlebenden Kaninchendünndarm hervorruft: Tonussteigerung bei konstanter Frequenz, aber mehr oder weniger stark abnehmender Amplitude der Pendelbewegungen.

Die Stärke dieser Wirkung, die nach dem Auswaschen des Pharmakons rasch reversibel ist, zeigt im Konzentrationsbereich von 10^{-6} bis 10^{-3} g/ml eine gesetzmäßige Abhängigkeit von der Höhe der Dosis (vgl. Abb. 24). Chlorogensäurekonzentrationen unter 10^{-6} g/ml bleiben unwirksam⁺).

In der Konzentration von 10^{-2} g/ml bewirkt die reine Chlorogensäure einen den niedrigeren Konzentrationen entgegengesetzten Effekt, der in einer prompt einsetzenden totalen Lähmung der Pendelbewegungen des Dünndarms unter gleichzeitiger starker, anhaltender Tonussenkung besteht (s. Abb. 24 a und 25 a). Ursache hierfür ist der mit der Applikation der stark sauren Ausgangslösung der Chlorogensäure (pH < 2) zur Tyrode-Lösung verbundene pH-Sprung der Badflüssigkeit vom physiologischen Wert 7,4 auf den von 3,8 (s. Tab. 15). Diese Schlußfolgerung wurde durch zwei besondere Versuche erhärtet:

1. Durch Zugabe reiner Salzsäure zur Tyrode-Lösung wurde dasselbe pH-Milieu wie im Falle der Chlorogensäurekonzentration von 10^{-2} g/ml erzeugt und die dadurch hervorgerufene Wirkung mit der Chlorogensäurewirkung verglichen. - Um mit Salzsäure den pH-Wert der Tyrode-Lösung (50 ml) von 7,4 auf 3,8 zu verschieben, waren 0,7 ml 1 n HCl erforderlich. -

Der Vergleich zeigt (s. Abb. 25 b), daß auch die durch Salzsäure

⁺ Dieses Ergebnis steht mit dem Befund von CZOK und LANG (160) in Einklang, die am Beispiel des überlebenden Rattenuterus zeigen konnten, daß Chlorogensäure an glattemuskuligen Organen tonussteigernd bzw. anregend wirkt. Während jedoch das von CZOK und LANG benutzte Magnuspräparat erst auf Chlorogensäure-Endkonzentrationen von 10^{-3} g/ml reagierte, sprach der in den eigenen Versuchen verwendete isolierte Kaninchendünndarm bereits auf Chlorogensäure-Endkonzentrationen an, die um zwei Zehnerpotenzen niedriger waren.

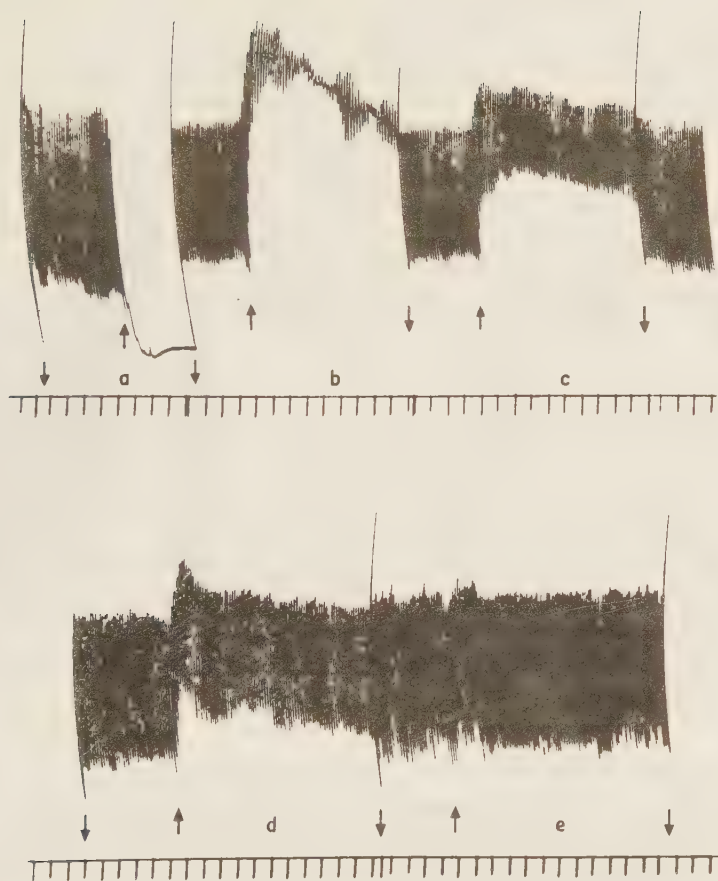


Abb. 24. Wirkung der Chlorogensäure in abgestuften Konzentrationen am isolierten Kaninchendünndarm nach MAGNUS.

↑: Chlorogensäure a) 1:100 b) 1:1000 c) 1:10 000
d) 1:100 000 e) 1:1 000 000. ↓: Auswaschen.

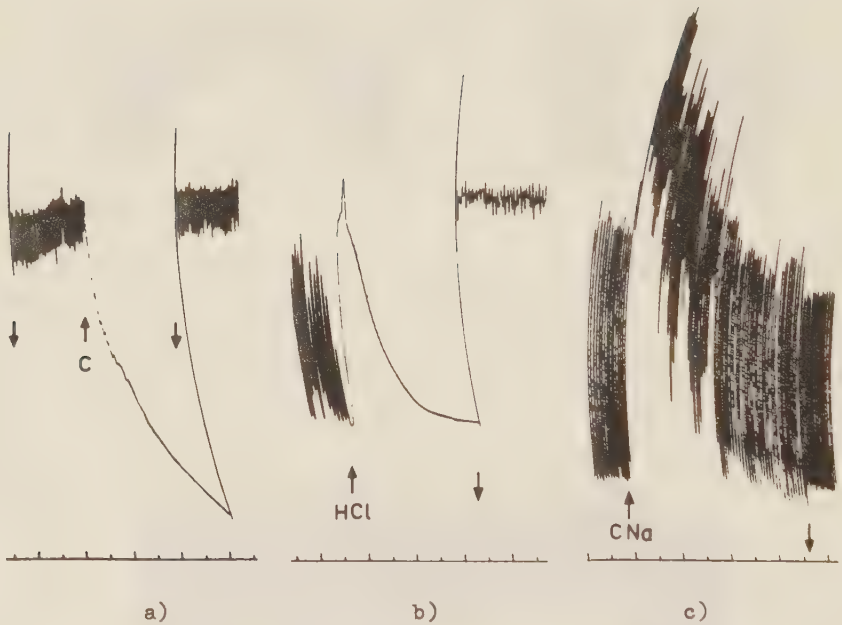


Abb. 25. Beweis der Säurewirkung hoher Chlorogensäurekonzentrationen am isolierten Kaninchendünndarm nach MAGNUS.

- a) ↑ C : Chlorogensäure, Endkonzentration 1 : 100 , pH 3,8.
b) ↑ HCl: Salzsäure , Endkonzentration 1 : 2000, pH 3,8.
c) ↑ CNa: Natriumchlorogenat, entsprechend einer
Chlorogensäure - Endkonzentration 1 : 100 , pH 7,4.
a-c) ↓ : Auswaschen. Gleiche Erholungszeiten.

verursachte pH-Verschiebung der Badflüssigkeit auf 3,8 eine totale Lähmung der Pendelbewegungen des Dünndarms bewirkt. Ein Unterschied zwischen der Salzsäure- und der Chlorogensäurewirkung macht sich nur am Tonus bemerkbar, der im Falle der HCl-Applikation nach anfänglichem Anstieg wieder auf die Ausgangsfußpunktlinie zurück-sinkt, im Falle der Chlorogensäure-Applikation dagegen unter Weg-fall des primären Anstiegs auf ein tieferes Niveau abfällt als es der Ausgangsfußpunktlinie entspricht. Außerdem bleibt auch die sehr hohe Konzentration der reinen Chlorogensäure (10^{-2} g/ml) nach dem Auswaschen ohne Nachwirkung auf den Darm (s. Abb. 24a und 25a), während die pH-entsprechende Dosis Salzsäure (Endkonzentration = $5 \cdot 10^{-4}$ g/ml) den Darm trotz mehrmaligem Auswaschen mit frischer Tyrode-Lösung schwer schädigt. Das geht daraus hervor, daß sich nach dem Auswaschen der Salzsäure ein starker, irreversibler Tonus-anstieg einstellte (s. Abb. 25b).

2. Die der Endkonzentration von 10^{-2} g/ml entsprechende Dosis Chlorogensäure (5 ml 10% ige Lösung; $\text{pH} < 2$) wurde zunächst mit 1 n NaOH neutralisiert und erst dann zur Badflüssigkeit gegeben.

In diesem Falle änderte sich der pH-Wert der Badflüssigkeit (7,4) selbstverständlich nicht, und die Chlorogensäure zeigte ihre spezifische tonussteigernde Wirkung (s. Abb. 25c). Diese Wirkung war teilweise noch stärker als die einer Chlorogensäurekonzentration von 10^{-3} g/ml; sie ordnete sich also folgerichtig in den gesetzmäßigen Zusammenhang zwischen Dosis und Wirkung ein.

Im Anschluß an die Wirkungsanalyse der reinen Chlorogensäure wurde geprüft, ob und inwieweit dieser Stoff die Strychninwirkung am überlebenden Kaninchendünndarm zu beeinflussen vermag. Zu dieser Prüfung wurden sowohl Darmstücke herangezogen, die auf Strychnin mit Tonussenkung reagierten, als auch solche, deren Tonus durch Strychnin gesteigert wurde. Es wurde so vorgegangen, daß an ein und demselben Darmstück zunächst die Wirkung einer bestimmten Menge Strychninsulfat (meist 1 mg/50 ml) registriert, dann das Darmstück ausgewaschen, nach der Erholung dieselbe Menge Strychninsulfat zuzüglich einer den vorher geprüften Konzentrationsstufen entsprechenden Menge Chlorogensäure appliziert und die daraufhin

eintretende Wirkung mit derjenigen des reinen Strychninsulfats verglichen wurde. Diese Vergleiche führten zu folgendem Ergebnis:

1. Wirkt Strychnin am isolierten Kaninchendünndarm tonussteigernd, so wird die Strychninwirkung durch Chlorogensäure entweder überhaupt nicht beeinflusst oder sogar abgeschwächt, d.h. die Tonusanstiege nach Strychninsulfat allein und nach Strychninsulfat plus Chlorogensäure sind höchstens gleich groß (s. Abb. 26). Eine wegen der ähnlichen Effekte beider Pharmaka zu vermutende Wirkungssteigerung konnte nicht beobachtet werden.

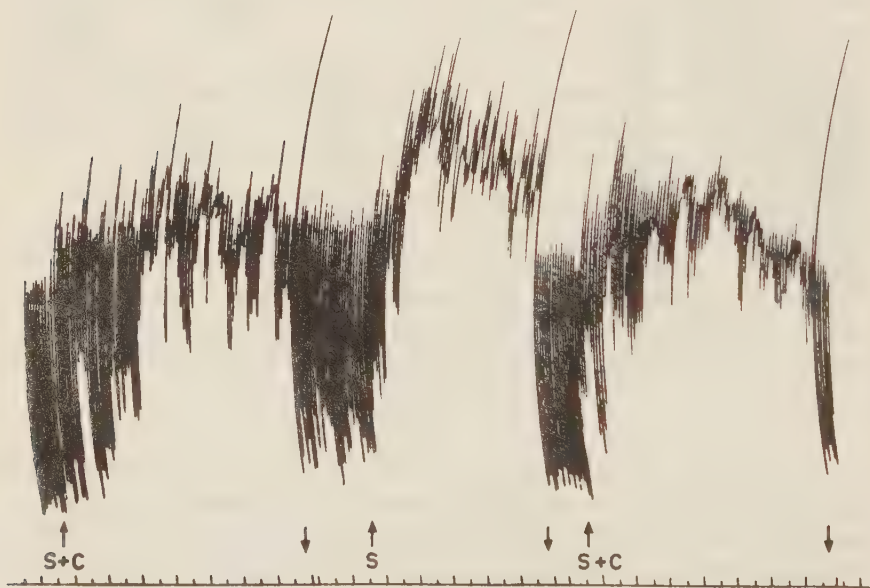


Abb. 26. Einfluß der Chlorogensäure auf die tonussteigernde Wirkung des Strychnins am isolierten Kaninchendünndarm.

↑ S : Strychninsulfat, Strychnin-Endkonzentration 1 : 50 000.
↑ S+C: Die gleiche Strychnindosis, kombiniert mit Chlorogensäure in einer Endkonzentration von 1 : 2000. ↓ : Auswaschen.

2. Wirkt Strychnin am isolierten Kaninchendünndarm tonussenkend, so wird die Strychninwirkung durch Chlorogensäure abgeschwächt, und zwar umso stärker je größer die Chlorogensäuredosis ist. Hier setzt sich also die tonussteigernde Chlorogensäurewirkung im antagonistischen Sinne durch.

Diese Erscheinung kann so weit gehen, daß z.B. bei Kombination der durchschnittlichen Strychninsulfatdosis von 1 mg/50 ml mit einer Chlorogensäuredosis von 50 mg/50 ml ($= 10^{-3}$ g/ml) im Endeffekt die Tonussteigerung überwiegt (s. Abb. 27).

Die kleinste Chlorogensäuredosis, die die Wirkung von 1 mg Strychninsulfat gerade noch erkennbar zu beeinflussen vermag, beträgt 0,5 mg; sie entspricht bei 50 ml Badvolumen einer Chlorogensäurekonzentration von 10^{-5} g/ml.

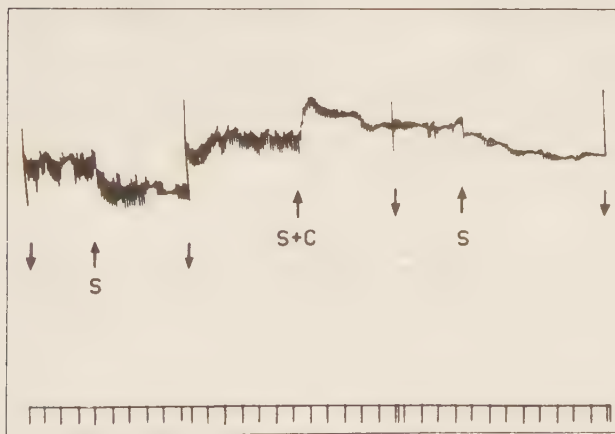


Abb. 27. Einfluß der Chlorogensäure auf die tonussenkende Wirkung des Strychnins am isolierten Kaninchendünndarm.

↑ S : Strychninsulfat, Strychnin-Endkonzentration 1 : 50 000.
↑ S+C: Die gleiche Strychnindosis, kombiniert mit Chlorogensäure in einer Endkonzentration von 1 : 1000. ↓ : Auswaschen.

Auf den Wirkungsvergleich Reinalkaloide gegen Galenika übertragen bedeutet dieses Ergebnis, daß die Alkaloidwirkung der Galenika dann beeinflußt werden könnte, wenn der Gehalt der Galenika an Chlorogensäure mindestens halb so groß ist wie der an Alkaloiden.

Wie aus Tab. 13 hervorgeht, enthielten sowohl Extractum als auch Tinctura Strychni knapp halb soviel Chlorogensäure (6,45% bzw. 0,08%) wie Gesamtalkaloide (14,2% bzw. 0,22%) Da ferner die Chlorogensäurekonzentration bei den mit der Extraktlösung E und der Tinkturenlösung T durchgeführten Versuchen etwa 10^{-5} g/ml betrug, hätte also die tonussenkende Alkaloidwirkung der Galenika theoretisch eine geringe Abschwächung erfahren können. Tatsächlich bewirkten aber beide Galenika in nahezu allen Versuchen eine deutlich stärkere Tonussenkung als die Reinalkaloidgemische RE bzw. RT. Der Unterschied in der Wirkung der Galenika gegenüber den entsprechenden Reinalkaloidgemischen lag somit genau in der entgegengesetzten Richtung wie er hätte liegen müssen, wenn er durch den Chlorogensäuregehalt der Galenika bedingt gewesen wäre.

Dieses Ergebnis kann wohl nur so gedeutet werden, daß in den Galenika andere (nicht unbedingt tonussenkende) Begleitstoffe enthalten sind, die nicht nur die antagonistische Chlorogensäurewirkung kompensieren, sondern darüber hinaus noch die Alkaloidwirkung verstärken.

e. Loganin

Nach den Versuchen von MARQUARDT am Straubischen Froschherzen, am Kaninchendarm und am Blutdruck der Katze (s. S. 91) war für Loganin auch in den eigenen Versuchen kaum eine Wirkung von Bedeutung zu erwarten. Tatsächlich ließ dieser Inhaltsstoff von Strychnos nux vomica nur bei der Höchstdosis von 0,5 g/50 ml (Endkonzentration 10^{-2} g/ml) eine gewisse Eigenwirkung erkennen. Diese besteht in einer unspezifischen, mehr oder weniger starken Abnahme der Amplitude der Pendelbewegungen, wobei die Frequenz

gleichbleibt und die Fußpunktslinie ihre Ausgangshöhe beibehält (s. Abb. 28). Sämtliche niedrigeren Loganindosen waren unwirksam.

Eine Beeinflussung der Strychninwirkung durch Loganin in der allein wirksamen Konzentration von 10^{-2} g/ml konnte nicht festgestellt werden.

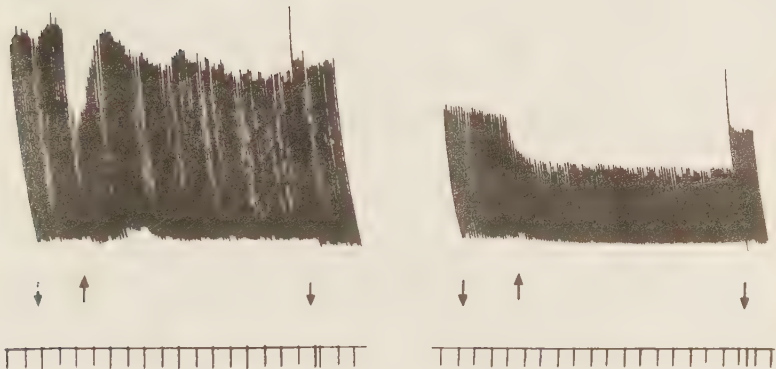


Abb. 28. Wirkung von Loganin in hoher Konzentration am isolierten Kaninchendünndarm nach MAGNUS.

↑ : Loganin, Endkonzentration 1 : 100. ↓ : Auswaschen.

II. Isolierter Kaninchendickdarm

1. Methodik

a. Präparation und Versuchsanordnung

Aus demselben frischen Intestinum, das zur Präparation des Dünndarms zur Verfügung stand, wurden gleichzeitig auch 6 - 10 cm lange Stücke des Dickdarms[†]) (s. Abb. 29) herauspräpariert und sofort in Tyrode-Lösung von Zimmertemperatur gelegt. Anschließend wurden

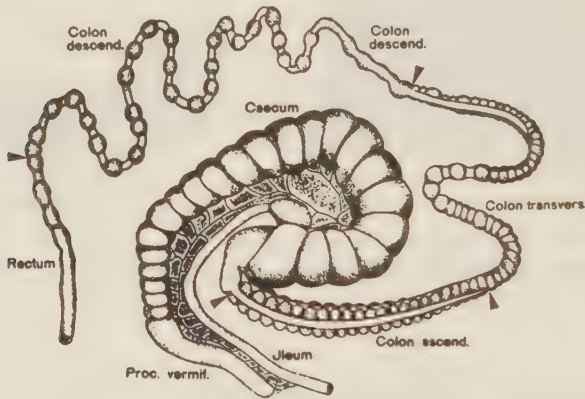


Abb. 29. Der Kaninchendickdarm.

Die Pfeile (▲) deuten die Begrenzung der einzelnen Colon-Abschnitte an.

[†]) Als Testobjekt wurde das auch von LANGLEY und MAGNUS (10) zu ihren Strychninversuchen benutzte, beim ausgewachsenen Kaninchen etwa 70 cm lange Colon descendens (203) verwendet. Da sich hinsichtlich der Lokalisation und Bezeichnung dieses in experimentell-pharmakologischen Veröffentlichungen sonst nur selten erwähnten Darmabschnitts zum Teil unterschiedliche Angaben in der Literatur finden (199 - 203), soll die obige Abbildung klarstellen, welcher Teil des Kaninchendickdarms für die eigenen Versuche präpariert wurde. - Die Abbildung wurde der Monographie von JEDENOW et al. (203) entnommen und in der Beschriftung vereinfacht.

diese mit mehr oder weniger meist festen Skybala angefüllten Darmstücke durch vorsichtige Digitalmassage von ihrem Inhalt befreit, nach Entfernung des Mesenteriums mehrmals mit frischer Tyrode-Lösung durchgespült und dann wie die Dünndarmstücke im Kühlschrank bei + 7°C aufbewahrt.

Die so vorrätig gehaltenen Dickdarmpräparate ließen sich länger als die Dünndarmpräparate, nämlich bis zu 48 Stunden nach der Isolierung, für die eigentlichen Versuche verwenden.

Hierfür wurden dieselben Apparaturen wie bei den Dünndarm-Versuchen benutzt (s. Abb. 16, S. 100). Der einzige Unterschied in der sonst gleichen Versuchsanordnung bestand in der andersartigen Befestigung der Darmstücke im Glasgefäß c. Da beim Colon nicht die Bewegung der Längsmuskulatur, sondern diejenige der Ringmuskulatur registriert werden sollte, wurden die zur Untersuchung kommenden Darmstücke von etwa 2 cm Länge quer eingespannt, indem punctum fixum am Mesenterialansatz und punctum mobile am gegenüber befindlichen Darmwandstück angelegt wurden.

Die Temperaturverhältnisse und die Sauerstoffversorgung entsprachen ebenfalls den Versuchen am isolierten Dünndarm, desgleichen die Umdrehungsgeschwindigkeit der Kymographentrommeln und die Zeitschreibung.

b. Pharmaka-Lösungen und Dosierung

Alle bei den Dünndarm-Versuchen benutzten Lösungen der Brechnuß-Galenika und -Reinsubstanzen kamen in derselben Form in gleichen Ausgangs- und Endkonzentrationen auch bei den Versuchen am isolierten Dickdarm zur Anwendung.

c. Pharmakologische Analyse

Während die Strychninwirkung am überlebenden Kaninchendünndarm bisher von anderen Autoren nicht quantitativ untersucht wurde, liegt für den überlebenden Kaninchendickdarm der bekannte erste Versuch in dieser Richtung von LANGLEY und MAGNUS (10) vor.

Aus der von diesen Autoren veröffentlichten Abbildung (Abb. 30),

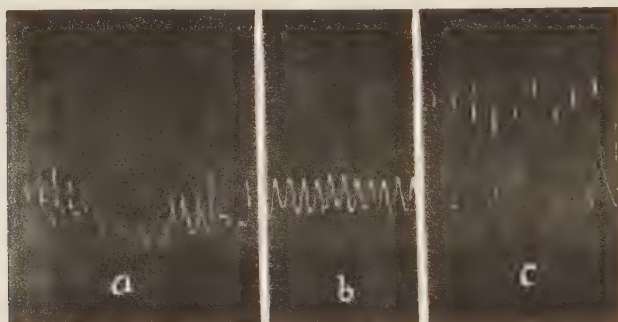


Abb. 30. Rußkurve der Kaninchendickdarm-Motilität nach LANGLEY und MAGNUS. Registrierung der Ringmuskel-Kontraktionen des Colon descend.: " a) Ungefähr 30 min nach Versuchsbeginn; die normalen Kontraktionen haben weitgehend an Stärke abgenommen. b) Wirkung nach Zugabe von Strychninsulfat, Endkonzentration 0,00625% ($\hat{=}$ 3,12 mg/50 ml). c) Wirkung nach Zugabe von Strychninsulfat, Endkonzentration 0,04% ($\hat{=}$ 20 mg/50 ml)."

die auch von POULSSON (128) übernommen wurde, geht - vorausgesetzt, daß es sich dabei um die Motilitätskurve ein und desselben Präparates handelt - hervor, daß die Amplitudengröße der Kontraktionen der Dickdarm-Ringmuskulatur proportional der Stärke der einwirkenden Strychninkonzentration ist; sie ist in diesem Fall bei der Strychninsulfatkonzentration von 0,04% (c) etwa dreimal größer als bei derjenigen von 0,00625% (b). Eine eventuelle Veränderung des Tonus ist aus der abgebildeten Rußkurve schon wegen des Fehlens einer Bezugslinie nicht ersichtlich, obwohl LANGLEY und MAGNUS auch einen solchen Effekt des Strychnins erwähnen⁺).

Der Erläuterung zu dieser Abbildung ist ferner zu entnehmen, daß die Pharmakonzugabe 1/2 Stunde nach Einbringen des Darmpräparats in die Badflüssigkeit erfolgte. Den Autoren schien eine Überschreitung dieses Zeitpunktes für die Durchführung des eigentlichen Experiments ungeeignet, weil die angeblichen Hauptnachteile ihrer Methode darin bestanden, daß bei späterer Applikation von erregend wirkenden Pharmaka unsichere Effekte auftraten ⁺⁺).

Wie jedoch die eigenen Untersuchungen zeigten, haben LANGLEY und MAGNUS gerade wegen der letzteren Annahme die spezifische Wirkung des Strychnins am überlebenden Kaninchendickdarm nicht auffinden können. Zahlreiche eigene Beobachtungen des physiologischen Verhaltens dieses Testobjekts führten nämlich zu dem Ergebnis, daß nach dem Einbringen der Präparate in die körperwarme, luftdurchperlte Tyrode-Lösung die Spontanbewegung der Ringmuskulatur in charakteristischer Weise zeitabhängig ist und entsprechend unterschiedlich durch Strychnin beeinflusst wird. Der typische Verlauf einer solchen unter Normalbedingungen ohne Pharmakonapplikation registrierten Motilitätskurve ist aus Abb. 31 ersichtlich.

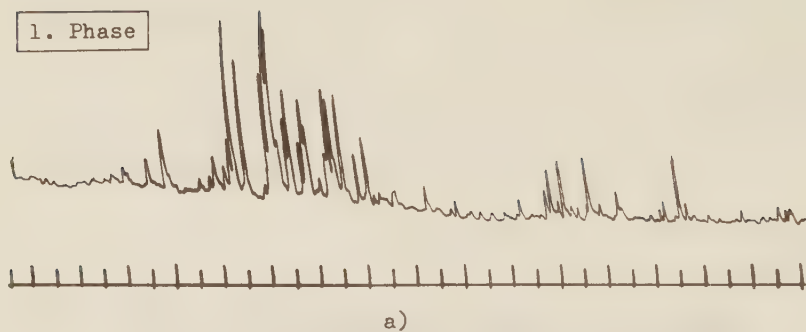
Die Kurve läßt drei verschiedene Phasen der Spontanbewegung des überlebenden Dickdarms erkennen:

1. Die Umstellungsphase. Infolge der großen Differenz zwischen der Badtemperatur im Vorratsgefäß (7° C) und der Badtemperatur in der Testapparatur (38° C) treten nach der Fixierung des Präparats meist stark arrhythmische Kontraktionen verschiedenen Ausmaßes auf, teilweise unterbleiben diese dagegen völlig. Nach kurzer Zeit vermindern sich Frequenz und Stärke dieser Kontraktionen, wobei der Tonus sinkt.

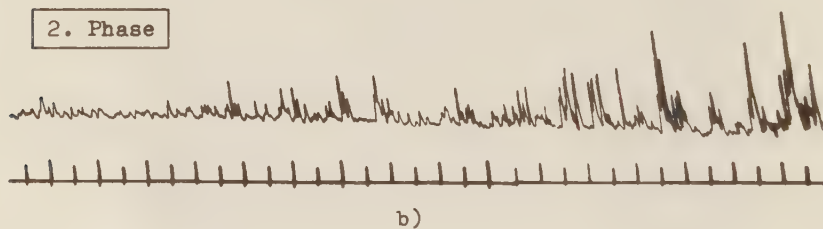
⁺) "In the descending colon of the rabbit it (strychnine) affects the tone and strength of the contraction (of the circular coat) in the direction of increase and the rate either in direction of increase or decrease; the effects vary considerably with the condition of the colon."

⁺⁺) "... the effects of stimuli cannot be satisfactorily observed after about 1/2 to 3/4 of an hour - though good contractions continue - and that even drugs in no long time give somewhat uncertain effects."

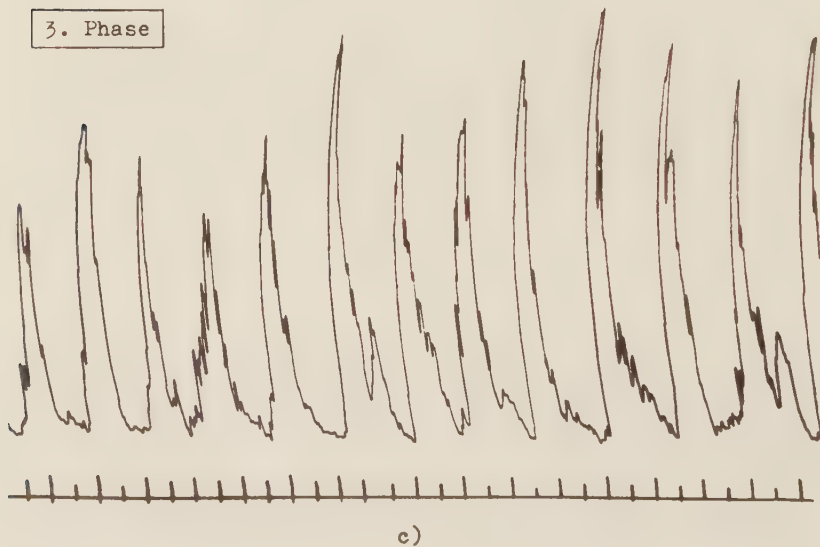
1. Phase



2. Phase



3. Phase



2. Die hypokinetische Phase. Wenn sich der Tonus des Darmstücks durch Temperaturanpassung normalisiert hat, sind entweder nur noch ganz schwache oder überhaupt keine Kontraktionen der Ringmuskulatur mehr zu verzeichnen. Dieses Stadium ist gewöhnlich nach 10 - 15 Minuten erreicht und erschien LANGLEY und MAGNUS für die Pharmakonapplikation am geeignetsten.
3. Die Pendel- bzw. peristaltische Phase. Die weiter verfolgte Spontanbewegung des überlebenden Dickdarms nimmt aber etwa 45 - 60 Minuten nach Versuchsbeginn eine neue, sehr charakteristische Form an: An das zwischenzeitliche Ruhestadium schließen sich nun starke, rhythmische Kontraktionen mit einer bestimmten, von Präparat zu Präparat verschiedenen Frequenz an. Diese Kontraktionen folgen entweder unmittelbar aufeinander, so daß das Bild dieser Darmmotilität mit dem der Pendelbewegungen des isolierten Kaninchendünndarms vergleichbar ist, oder es sind zwischen die starken Kontraktionen wesentlich schwächere eingeschaltet, so daß dieses Bild dann eher peristaltischen Bewegungsformen ähnelt (s. Abb. 32). Auf jeden Fall aber bleiben die verschiedenen Dickdarmbewegungen dieser Phase ohne wesentliche Änderung bis zum Absterben der Präparate (etwa 10 bis 12 Stunden nach Versuchsbeginn) erhalten.

Die lange Dauer und die große Motilitätskonstanz der letzten Bewegungsphase ließen es angebracht erscheinen, die für die vorliegende Arbeit erforderlichen Untersuchungen zur Entwicklung einer quantitativen Testmethode in dem dieser Phase entsprechenden Zeiteabschnitt durchzuführen. - Während sich die Angaben von LANGLEY und MAGNUS zur Strychninwirkung am überlebenden Kaninchendickdarm auf Effekte beziehen, die in der zweiten oben beschriebenen Phase auftreten können, stützen sich also die eigenen Angaben hierzu auf Beobachtungen, die in der dritten Phase gemacht wurden.

← Abb. 31. Die 3 Phasen der normalen Motilität des isolierten Kaninchendickdarms (s. Text). Registrierung der Ringmuskulaturkontraktionen desselben Darmpräparats zu verschiedenen Zeitabschnitten nach dem Einbringen in Tyrode-Lösung von 38° C : a) unmittelbar, b) 20 Minuten, c) 60 Minuten danach.

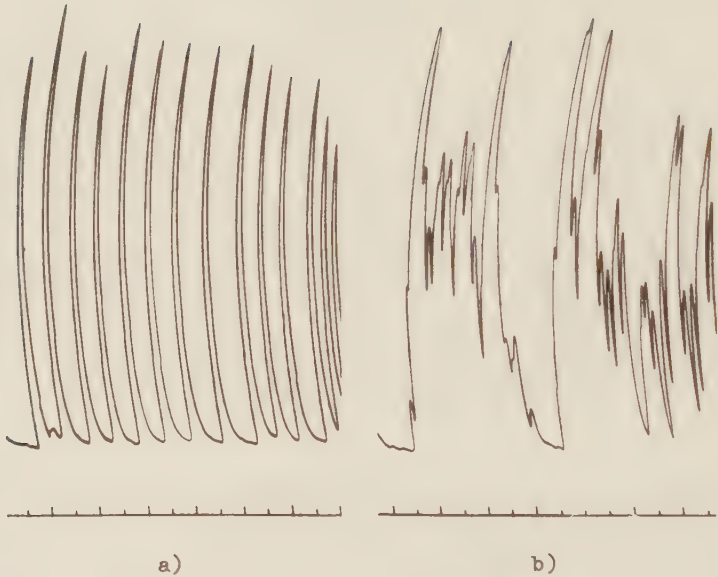


Abb. 32. Verschiedene Erscheinungsformen der normalen Ringmuskel-Motilität des isolierten Kaninchendickdarms nach MAGNUS (Colon descend.) in der 3. Bewegungsphase:
a) pendelartig, b) peristaltikähnlich.

Die Überprüfung der Angaben von LANGLEY und MAGNUS ergab in Übereinstimmung mit diesen Autoren, daß Strychnin am überlebenden Kaninchendickdarm in der 2. Motilitätsphase mehr oder weniger starke Kontraktionen der Ringmuskulatur hervorzurufen vermag und daß dieser Effekt von Präparat zu Präparat sehr variiert. Eine gleichzeitig damit verbundene charakteristische Tonusveränderung konnte - entgegen den Angaben dieser Autoren - nicht festgestellt werden.

Wie ein Vergleich der von LANGLEY und MAGNUS nach Strychninapplikation erhaltenen Rußkurve (Abb. 30) mit der bei den eigenen Versuchen ohne Strychninapplikation z.B. erhaltenen Rußkurve (Abb. 31) zeigt, besteht zwischen dem Strychnineffekt in der 2. Motilitätsphase und der Spontanbewegung während der 3. Phase kein merklicher Unterschied. Aus dieser Tatsache kann geschlossen werden, daß Strychnin, in der hypokinetischen Phase des Präparats appliziert, lediglich ein vorzeitiges Einsetzen der Pendelphase bewirkt. Diese Schlußfolgerung wird durch folgende Feststellungen gestützt: Nach dem Auswaschen von in der 2. Phase appliziertem Strychnin bleibt die durch das Pharmakon hervorgerufene Motilitätsänderung erhalten (s. Abb. 33a). Alle anderen am isolierten Kaninchendarm durch gleiche Strychninkonzentrationen erzielten Effekte sind aber nach hinreichendem Auswaschen des Pharmakons reversibel. Es kann sich also in diesem Fall nur um eine besondere Art der Wirkung des Strychnins, und zwar um eine Art Katalyse des Normalgeschehens handeln, durch die die 3. Motilitätsphase des überlebenden Kaninchendickdarms beschleunigt eintritt.

Eine ganz andersartige Wirkung des Strychnins konnte dagegen bei Applikation des Pharmakons in der 3. Motilitätsphase festgestellt werden. Werden hier Strychnindosen von 0,5 - 2 mg/50 ml gegeben, so tritt eine meist deutlich ausgeprägte, parabelförmig ansteigende und wieder abfallende Tonuserhöhung auf. Diese Tonuserhöhung setzt mehr oder minder schnell ein, dauert verschieden lange und ist meistens mit einer Frequenzsteigerung und oft mit einer gleichzeitigen Amplitudenverkleinerung der Pendelbewegungen verbunden (erregende Wirkung). Die typische Erscheinungsform dieser Strychninwirkung ist aus Abb. 33c u. 34 ersichtlich.



Abb. 23. Wirkung gleicher Strychninkonzentrationen am isolierten Kaninchendickdarm bei Applikation vor und nach der Ausbildung der 3. Motilitätsphase.
 ↑ S: Strychninsulfat, Strychnin-Endkonz. 1: 50 000; a) 15 min, b) 45 min, c) 80 min nach Versuchsbeginn. ↓: Auswaschen. Erholungszeit 20 min.

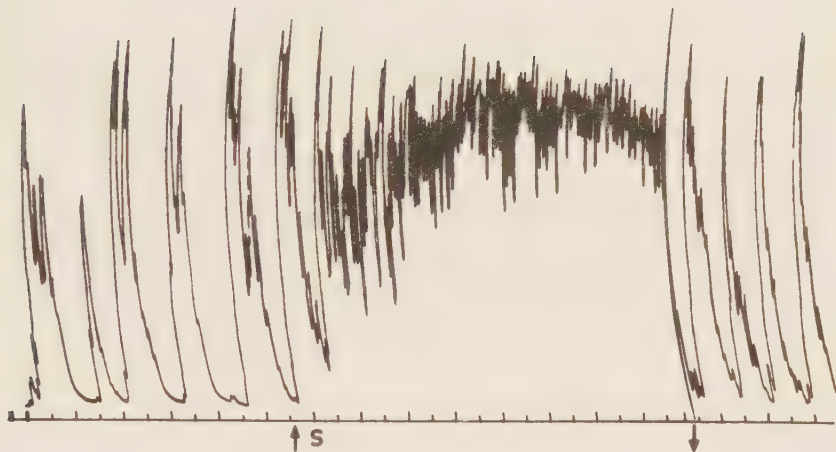


Abb. 34. Typisches Bild der Strychninwirkung am isolierten Kaninchendickdarm in der 3. Motilitätsphase.

↑ S: Strychninsulfat, Strychnin-Endkonz. 1 : 50 000.
↓ : Auswaschen. Erholungszeit 25 min.

Wie beim überlebenden Kaninchendünndarm ist auch beim überlebenden Kaninchendickdarm die Spanne der Strychnindosen, die diese charakteristische Wirkung erkennen lassen, sehr klein. Dosen unter 0,5 mg/50 ml rufen kaum einen sichtbaren Effekt hervor, Dosen über 2 mg/50 ml führen dagegen leicht zu spastischen Dauerkontraktionen der Ringmuskulatur. Im dazwischen liegenden Konzentrationsbereich besteht eine gute Abhängigkeit zwischen Strychnindosis und gemessenem Effekt, gleichgültig, ob man als Maßstab den maximalen Tonusanstieg oder die von der Pharmakonapplikation bis zum Wirkungsmaximum verstreichende Zeit wählt. Damit waren die Voraussetzungen für eine Methode zur quantitativen Bestimmung der Strychninwirkung am überlebenden Kaninchendickdarm erfüllt.

Die vergleichenden pharmakologischen Untersuchungen wurden auf dieser Grundlage in folgender Weise durchgeführt:

Das jeweils zur Anwendung gelangende Darmpräparat wurde, wie eingangs beschrieben, in der Testapparatur fixiert und 1 Stunde unter Normalbedingungen sich selbst überlassen. Hatten sich nach dieser Zeit keine pendelartigen Kontraktionen eingestellt, was höchstens bei 5 - 10 % aller Fälle geschah, so wurde das Präparat verworfen. Bei normalem Eintritt der rhythmischen Spontanbewegungen dieser 3. Motilitätsphase wurde nach ihrer völligen Entwicklung in einem Vorversuch durch Zugabe von 1 ml Reinalkaloidlösung (s. S. 102) die Reaktionsbereitschaft des Präparats geprüft. Wenn sich dabei eine deutlich erkennbare Tonuserhöhung zeigte, wurde an diesem Darmstück anschließend die Wirkung der Reinalkaloidlösung (RE bzw. RT) mit derjenigen der Galenikumlösung (E bzw. T) verglichen.

Wie beim Wirkungsvergleich am Dünndarm wurden auch hier die verschiedenen, je 0,1 % Gesamtalkaloide enthaltenden Lösungen in je 3 Konzentrationsstufen (0,5 - 1 - 2 ml / 50 ml) teils in steigender, teils in fallender Dosenfolge zur Badflüssigkeit gegeben, und zwar ebenfalls im Wechsel Reinalkaloide gegen Extrakt oder Reinalkaloide gegen Tinktur.

Jede Dosis wurde stets zwischen Deszente und Aszente von zwei aufeinanderfolgenden Ringmuskelkontraktionen in der Phase der größten Erschlaffung des Darmstücks appliziert. Nach der Applikation des Pharmakons wurde jeweils die tonuserhöhende Wirkung bis kurz nach Erreichen ihres Maximums registriert, dann das Pharmakon mit 5 x 50 ml frischer Tyrode-Lösung ausgewaschen und anschließend für den Darm eine Pause von 20 - 30 Minuten unter Normalbedingungen eingelegt. Gegenüber dem beim Dünndarm erforderlichen Erholungsschema war also beim Dickdarm eine längere Pause nötig, um den Tonus der Darmstücke wieder zu normalisieren und eine Nachwirkung der vorangegangenen Pharmakonapplikation auszuschalten.

Für die verschiedene Wirksamkeit der einzelnen alkaloidhaltigen Lösungen wurden zwei Maßstäbe gewählt:

1. Die Höhe des nach der Pharmakonapplikation erreichten maximalen Tonusanstiegs (h), d.h. der größte senkrechte Abstand der Fußpunktlinie von der Ausgangspunktgrundlinie, gemessen in mm. (Dosis-Wirkungs-Beziehung.)
2. Die Länge der von der Pharmakonapplikation bis zum maximalen Tonusanstieg verstreichenden Zeit (t), gemessen in min. (Dosis-Zeit-Beziehung.)

Die Auswertung der Rußkurven erfolgte demgemäß nach dem in Abb. 35 wiedergegebenen Schema.

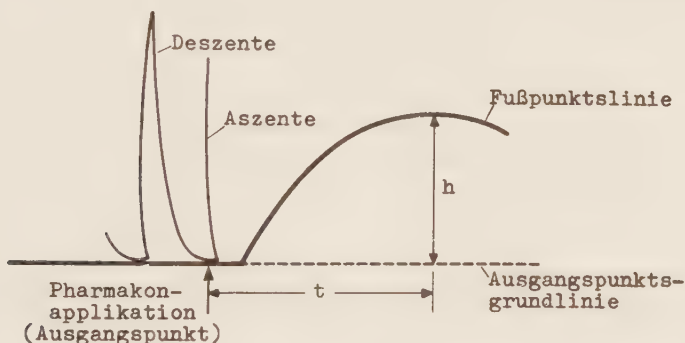


Abb. 35. Schema zur quantitativen Auswertung der Strychninwirkung am isolierten Kaninchendickdarm.

Die relative Wirksamkeit der galenischen Präparate zu den entsprechenden Reinalkaloidmischungen bei gleichen Alkaloidkonzentrationen konnte dann ausgedrückt werden durch die Beziehungen

$$\frac{h_G}{h_R} = Q_h \quad \text{und} \quad \frac{t_G}{t_R} = Q_t$$

(G = Galenisches Präparat, R = Reinalkaloidmischung).

Für den Fall der Wirkungsgleichheit mußten diese Quotienten (Höhenquotient Q_h und Zeitquotient Q_t) den durchschnittlichen Wert 1 annehmen.

Auch am isolierten Dickdarm wurde der Wirkungsvergleich bei zwei Temperaturstufen in gleicher Weise wie beim Dünndarm durchgeführt, nur war für dieses Testobjekt nach dem Temperaturwechsel von 38°C auf 28°C eine Gewöhnungszeit von 45 statt 30 Minuten erforderlich.

Durch die Anwendung der zweiten Temperaturstufe ergaben sich als weitere Meßgrößen für die relative Wirksamkeit nicht nur die Höhen- und Zeitquotienten für 28°C , sondern auch die auf die Wirkungsmaxima (h) und die Reaktionszeiten (t) bezogenen Temperaturkoeffizienten k_h und k_t jeder einzelnen Lösung (vgl. S. 110):

$$k_h = \frac{h_{28^{\circ}}}{h_{38^{\circ}}} \quad ; \quad k_t = \frac{t_{28^{\circ}}}{t_{38^{\circ}}}$$

Ebenfalls wie am Dünndarm wurde auch am Dickdarm der Einfluß von Chlorogensäure und Loganin auf die Strychninwirkung untersucht.

2. Versuchsergebnisse

a. Extractum Strychni

Als erster Maßstab für die relative Wirksamkeit der Reinalkaloidlösung RE gegenüber der Extraktlösung E diene die Dosis-Wirkungs-Beziehung, d.h. die Höhe des nach mengengleicher Alkaloidapplikation erreichten maximalen Tonusanstiegs. Die hierfür erhaltenen Versuchsergebnisse sind in Tab. 18 zusammengestellt und in Abb. 36 durch die entsprechenden Dosis-Wirkungs-Kurven veranschaulicht.

Wie daraus hervorgeht, zeigen beide Lösungen im angewandten Konzentrationsbereich den gleichen grundsätzlichen Zusammenhang zwischen Dosis und Wirkung: Je höher die Konzentration des Pharmakons ist, desto größer ist die Höhe des maximalen Tonusanstiegs.

Bei der physiologischen Temperatur von 38°C erwies sich bei gleichen Alkaloidkonzentrationen die Reinalkaloidlösung etwas stärker wirksam als die Extraktlösung, so daß sich für Extractum Strychni ein durchschnittlicher Höhenquotient Q_h von 0,88 ergibt.

An den bei der tieferen Temperaturstufe von 28°C erhaltenen Ergebnissen fällt zunächst auf, daß beide Pharmakalösungen eine deutlich stärkere Wirkung hervorriefen als bei 38°C [†]). Diese Erscheinung deckt sich mit der am Dünndarm gemachten Beobachtung insofern, als auch dort die Wirkung bei Temperaturerniedrigung im Durchschnitt stärker war als bei der um 10° höher liegenden Temperatur. Am längs fixierten Dünndarm, der auf Strychnin mit Tonusenkung reagiert, konnte der wirkungssteigernde Einfluß der Temperaturerniedrigung dadurch gedeutet werden, daß der bei der tieferen Temperatur erhöhte Spannungszustand des Darms eine größere Entspannung durch tonussenkende Pharmaka ermöglicht.

[†]) Es wurde außerdem beobachtet, daß die durch Strychnin bewirkte Tonuserhöhung am abgekühlten Dickdarm immer wesentlich länger andauert als am normal temperierten Präparat.

Die bei Temperaturerniedrigung gesteigerte Tonuserhöhung des quer fixierten Dickdarms durch Strychnin findet ebenfalls im physiologischen Verhalten dieses Testobjekts ihre Deutung. Wird nämlich das Ringmuskelpreparat in reiner Tyrode-Lösung von 38°C auf 28°C abgekühlt, so nimmt - neben einer leichten Tonuserhöhung und einer naturgemäßen Frequenzabnahme der rhythmischen Kontraktionen ^{*)} - in den meisten Fällen die Amplitude der Kontraktionen erheblich zu. Wie aber die Versuche an verschiedenen Darmstücken zeigten, kommt die tonussteigernde Wirkung des Strychnins umso stärker zur Geltung, je größer die Amplitude der Ringmuskelnkontraktion ist. Die bei 28°C beobachteten größeren Amplituden des Dickdarms gegenüber den bei 38°C auftretenden können also zur Deutung des wirkungsfördernden Einflusses der Temperaturerniedrigung herangezogen werden.

Daß bei der höchsten Dosis eine weitgehende Annäherung und sogar teilweise Überschneidung der bei 38°C und 28°C erhaltenen Dosis-Wirkungs-Kurven eintrat (s. Abb. 36), ist höchstwahrscheinlich durch die Methodik bedingt. Da nämlich jedes Darmstück insgesamt 12 Pharmakonapplikationen überdauern mußte und infolge der gerade bei 28°C verzögerten Reaktions- und Erholungszeiten die beiden letzten Dosen oft erst mehr als 8 Stunden nach Versuchsbeginn appliziert werden konnten, ist es verständlich, daß zu diesem Zeitpunkt manche Präparate keine hinreichend große Empfindlichkeit mehr besaßen und deshalb mit kleinerem Tonusanstieg als erwartet reagierten.

Neben der durch Temperatursenkung für beide Lösungen sich ergebenden Wirkungssteigerung tritt jedoch bei 28°C vor allem ein wichtiger Unterschied zwischen der Reinalkaloidlösung und der Extraktlösung zutage. Er besteht darin, daß die relative Wirksamkeit von Extrakt- zu Reinalkaloidlösung, die bei 38°C 0,88 betrug, bei 28°C deutlich ins Gegenteil umschlägt, so daß sich hier für Extractum

^{*)} Wie die eigenen Versuche am Magnuspräparat zeigten, nimmt die Frequenz der pendelartigen Bewegung der Dickdarm-Ringmuskulatur bei Senkung der Temperatur von 38°C auf 28°C annähernd im Verhältnis 3:1 ab. Dieselbe Relation fanden LAUBENDER und BALLMAIER ⁽⁹⁾ bei der gleichen Temperaturerniedrigung auch für die Frequenzabnahme der Pendelung der Dünndarm-Längsmuskulatur.

Strychni ein mittlerer Höhenquotient von 1,40 ergibt. Der Extrakt erfährt also durch die Temperaturerniedrigung eine wesentlich größere Wirkungssteigerung als die entsprechende Reinalkaloidmischung. Zahlenmäßig ausgedrückt, beträgt der mittlere Temperaturkoeffizient k_h der Extraktwirkung 2,00; der der Reinalkaloidwirkung aber nur 1,55.

Als zweiter Maßstab für die relative Wirksamkeit der untersuchten Lösungen diente die Dosis-Zeit-Beziehung, d.h. die Länge der von mengengleicher Alkaloidapplikation bis zum maximalen Tonusanstieg verstreichenden Zeit. Die hierfür erhaltenen Versuchsergebnisse sind in Tab. 19 zusammengestellt und in Abb. 37 durch die entsprechenden Dosis-Zeit-Kurven veranschaulicht.

Dosis-Zeit-Kurven, die auf diese Weise gewonnen werden, pflegen grundsätzlich so zu verlaufen, daß mit steigender Konzentration des Pharmakons die bis zur Erreichung eines bestimmten Effektes (hier des maximalen Tonusanstiegs) verstreichende Zeit immer kürzer wird; sie stehen jedoch weder im reziproken noch in irgendeinem anderen einfachen gesetzmäßigen Verhältnis zu den entsprechenden Dosis-Wirkungs-Kurven (204).

Im vorliegenden Fall tritt bei der Ausgangstemperatur von 38°C die genannte Dosis-Zeit-Beziehung nicht klar in Erscheinung, weil die bei der niedrigsten Konzentration bis zum maximalen Tonusanstieg verstreichenden Zeiten sowohl beim Galenikum als auch beim Reinalkaloidgemisch kleiner sind als diejenigen Zeiten, die bei der nächsthöheren Konzentration beansprucht werden. Der dadurch entstehende Knick beider Zeitkurven (vgl. Abb. 37) ist, wie die Umkehrung der Dosenfolge ergab, auf Streuungen zurückzuführen. Wurde nämlich statt der steigenden die fallende Dosenfolge angewandt, so fiel der Knick in beiden Kurven praktisch weg. Da aber die meisten Versuche mit steigender Dosenfolge angestellt wurden, zeigen auch die abgebildeten Mittelwertskurven den bei dieser Dosenfolge aufgetretenen Knick, wenn auch in abgeschwächtem Maße.

Der Unterschied zwischen den mit der Extraktlösung und mit der Reinalkaloidlösung gewonnenen Dosis-Zeit-Kurven besteht darin, daß die Extraktkurve höher liegt als die Reinalkaloidkurve, d.h. also,

daß die bis zur Erreichung des Wirkungsmaximums verstreichenden Zeiten beim Extrakt durchweg länger sind als bei der Reinalkaloidmischung. Zahlenmäßig ausgedrückt, liegen die mittleren Zeitquotienten Q_t der einzelnen Dosen von Extractum Strychni bei 38°C zwischen 1,18 und 1,29.

Die Temperaturerniedrigung auf 28°C hatte auf die Reaktionszeiten folgenden Einfluß:

Beide Dosis-Zeit-Kurven, die des Extrakts und die der Reinalkaloidmischung, wurden nach oben verschoben. Das entspricht der allgemeinen Erfahrung, daß mit Temperatursenkung die bis zur Erreichung eines bestimmten Effektes verstreichenden Zeiten sich verlängern oder, anders ausgedrückt, die Geschwindigkeiten abnehmen.

Dabei zeigte sich ein deutlicher Unterschied zwischen dem Verhalten des Galenikums und dem der Reinalkaloidmischung: Die Galenikumlösung E wird in ihrer Wirkung sehr viel weniger durch die Temperaturerniedrigung beeinflußt als die Vergleichslösung RE (Q_t 28°C = 0,64 - 0,76). - Demgemäß hat die Extraktwirkung einen wesentlich kleineren Temperaturkoeffizienten k_t als die Reinalkaloidwirkung; er beträgt im Mittel für Extractum Strychni 1,58 und für die Reinalkaloidmischung 2,79.

Die Wirkungsunterschiede zwischen Extractum Strychni und der entsprechenden Reinalkaloidmischung am isolierten Kaninchendickdarm können danach wie folgt zusammengefaßt werden:

Bei 38°C ist die Wirkung des Extrakts etwas schwächer als die der Reinalkaloidmischung. Außerdem wird das Wirkungsmaximum vom Extrakt langsamer erreicht als von der Reinalkaloidmischung.

Bei 28°C ist die Wirkung des Extrakts stärker als die der Reinalkaloidmischung, während das Wirkungsmaximum vom Extrakt bedeutend schneller erreicht wird als von der Reinalkaloidmischung.

(Siehe hierzu auch Abb. 38 a u. b.)

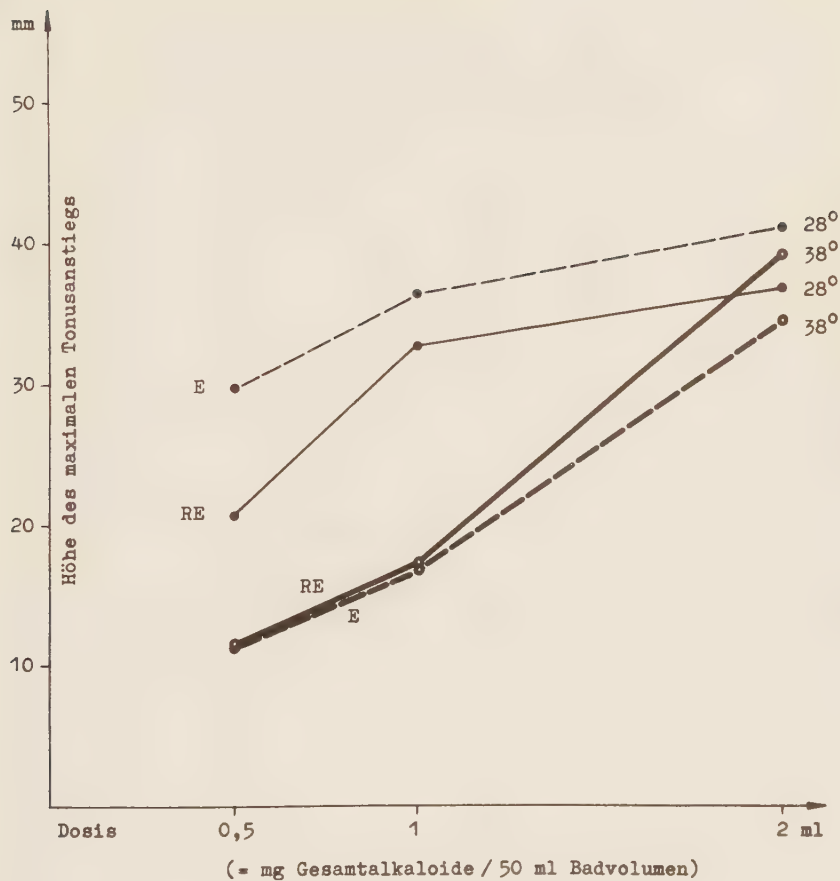


Abb. 36. Dosis-Wirkungs-Kurven von Extraktlösung E und Reinkalkaloidlösung RE. Isolierter Kaninchendickdarm.

Tabelle 18. Wirkungsvergleich zwischen Extractum Strychni (E) und Reinalkaloidgemisch (RE) am isolierten Kaninchendickdarm. (Dosierung entspr. 0,5 - 1 - 2 mg Gesamtalkaloide / 50 ml Badvol.)

Darm Nr.	0,5			1			2		
	RE	E	Q_h	RE	E	Q_h	RE	E	Q_h
	Höhe des maximalen Tonusanstiegs (in mm) und Höhenquotienten (Q_h) bei 38°C :								
15/05	22,0	32,0	1,46	37,5	41,0	1,09	40,5	41,5	1,01
16/10	5,5	5,0	0,91	4,5	4,5	1,00	32,0	27,5	0,86
17/06	5,0	4,0	0,80	8,0	7,5	0,94	46,0	39,0	0,85
18/08	30,5	27,0	0,89	36,5	38,5	1,06	49,0	36,5	0,75
19/10	2,0	1,0	0,50	4,0	2,0	0,50	10,5	6,5	0,62
20/08	6,5	4,0	0,61	7,0	5,0	0,71	15,0	13,0	0,87
22/10	17,0	16,5	0,97	21,0	21,0	1,00	41,0	45,0	1,10
23/09	9,5	6,0	0,63	27,0	18,0	0,67	76,0	66,0	0,87
24/08	4,5	5,0	1,11	10,5	13,0	1,24	42,0	34,0	0,81
Mittel- werte	11,4	11,3	0,88 (0,99)	17,3	16,7	0,91 (0,97)	39,1	34,4	0,86 (0,88)
	Höhe des maximalen Tonusanstiegs (in mm) und Höhenquotienten (Q_h) bei 28°C :								
15/05	40,0	46,5	1,16	52,5	46,0	0,88	43,0	32,5	0,74
16/10	5,5	8,5	1,55	10,5	19,0	1,81	42,0	46,0	1,10
17/06	56,0	57,0	1,02	56,5	56,5	1,00	40,0	40,0	1,00
18/08	9,0	33,0	3,67	25,5	38,5	1,51	11,0	26,0	2,36
19/10	11,0	22,0	2,00	26,0	27,0	1,04	24,0	22,5	0,94
20/08	26,5	35,5	1,34	41,0	42,0	1,01	30,5	42,0	1,38
22/10	13,5	30,0	2,22	28,0	33,0	1,18	43,5	56,5	1,30
23/09	13,0	20,5	1,58	22,5	40,0	1,78	53,0	58,0	1,10
24/08	11,0	14,5	1,32	32,0	26,0	0,81	44,0	46,0	1,05
Mittel- werte	20,6	29,7	1,76 (1,44)	32,7	36,4	1,22 (1,12)	36,8	41,1	1,22 (1,12)
k_h	1,81	2,63	-	1,89	2,18	-	0,94	1,20	-

Anmerkung: Die Versuche wurden an den Därmen der Tiere Nr. 15 - 20 bei steigender Dosenfolge und an den Därmen der Tiere Nr. 22 - 24 bei fallender Dosenfolge durchgeführt (s. Text).

Die in Klammern () gesetzten Werte stellen jeweils den Quotienten aus den Mittelwerten von E und RE dar. k_h = Temperaturkoeffizient.

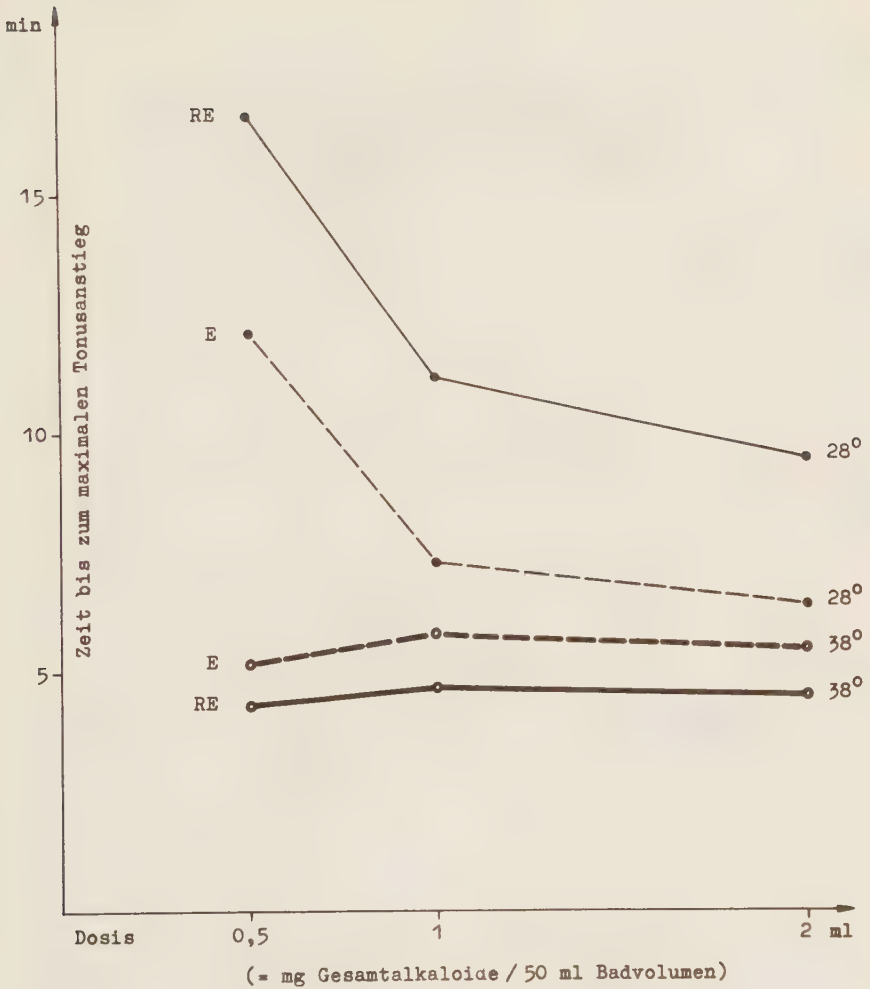


Abb. 37. Dosis-Zeit-Kurven von Extraktlösung E und Reinalkaloidlösung RE. Isolierter Kaninchendickdarm.

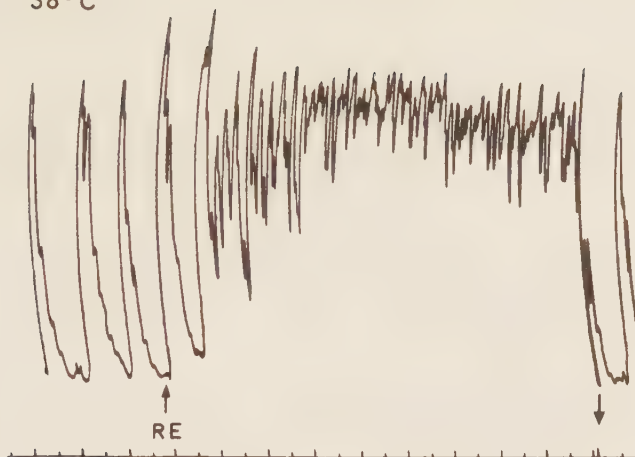
Tabelle 19. Wirkungsvergleich zwischen Extractum Strychni (E) und Reinalkaloidegemisch (RE) am isolierten Kaninchendickdarm. (Dosierung entspr. 0,5 - 1 - 2 mg Gesamtalkaloide / 50 ml Badvol.)

Darm Nr.	0,5			1			2		
	RE	E	Q_t	RE	E	Q_t	RE	E	Q_t
	Zeit bis zum maximalen Tonusanstieg (in min) und Zeitquotienten (Q_t) bei <u>38°C</u> :								
15/05	5,4	5,8	1,07	6,3	7,1	1,13	6,3	7,8	1,24
16/10	3,5	9,2	2,63	3,4	6,5	1,91	4,7	5,6	1,19
17/06	2,3	4,6	2,00	3,1	5,4	1,74	4,1	7,9	1,93
18/08	7,2	6,4	0,89	7,8	11,3	1,45	7,3	7,8	1,07
19/10	3,1	1,4	0,45	4,9	2,6	0,53	3,5	3,0	0,86
20/08	1,0	1,0	1,00	0,7	0,8	1,14	2,2	1,4	0,64
22/10	6,3	9,2	1,46	5,6	6,9	1,23	5,6	7,7	1,38
23/09	6,3	7,1	1,13	7,5	6,7	0,89	5,0	6,4	1,28
24/08	3,2	1,8	0,56	3,1	4,8	1,55	2,1	2,2	1,05
Mittelwerte	4,3	5,2	1,24 (1,21)	4,7	5,8	1,29 (1,24)	4,5	5,5	1,18 (1,22)
	Zeit bis zum maximalen Tonusanstieg (in min) und Zeitquotienten (Q_t) bei <u>28°C</u> :								
15/05	34,6	27,2	0,79	12,2	8,5	0,70	3,4	2,6	0,76
16/10	7,6	9,7	1,28	7,8	5,1	0,65	10,7	8,2	0,77
17/06	19,8	12,8	0,65	14,1	9,8	0,69	13,5	10,9	0,81
18/08	13,5	6,7	0,50	12,2	7,8	0,64	18,1	8,6	0,47
19/10	9,2	7,5	0,81	8,2	6,7	0,82	4,5	5,2	1,16
20/08	13,7	6,8	0,50	7,2	4,1	0,57	4,7	3,1	0,66
22/10	10,5	10,0	0,95	8,1	3,0	0,37	5,2	4,0	0,77
23/09	22,4	15,3	0,68	16,1	11,8	0,73	11,6	7,2	0,62
24/08	19,4	12,7	0,65	15,3	9,3	0,61	14,2	8,0	0,56
Mittelwerte	16,7	12,1	0,76 (0,73)	11,2	7,3	0,64 (0,65)	9,5	6,4	0,73 (0,67)
k_t	3,88	2,33	-	2,38	1,26	-	2,11	1,16	-

Anmerkung: Die Versuche wurden an den Därmen der Tiere Nr. 15 - 20 bei steigender Dosenfolge und an den Därmen der Tiere Nr. 22 - 24 bei fallender Dosenfolge durchgeführt (s. Text).

Die in Klammern () gesetzten Werte stellen jeweils den Quotienten aus den Mittelwerten von E und RE dar. k_t = Temperaturkoeffizient.

38°C



38°C

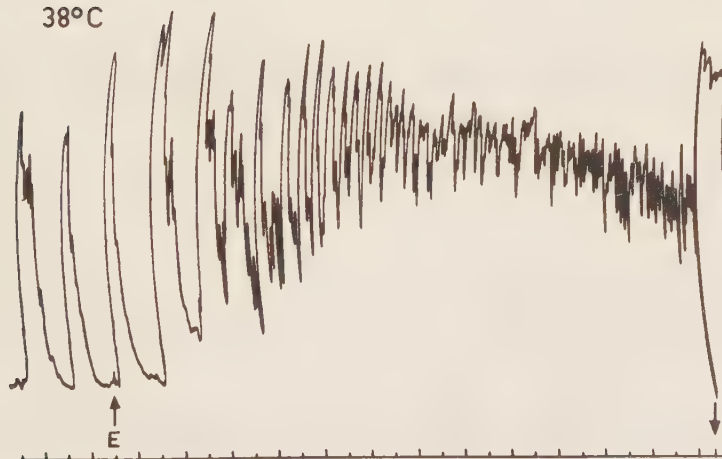
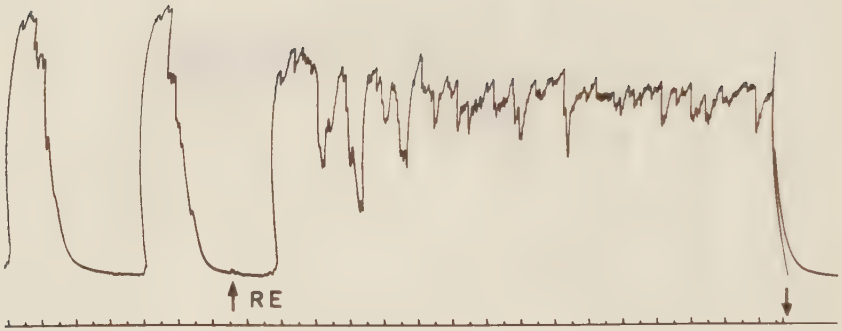


Abb. 38 a. Wirkung von Extraktlsg. E und Reinalkaloidlsg. RE am isolierten Kaninchendickdarm (Colon descendens) bei 38°C. Registrierung der Ringmuskel-Motilität desselben Präparats.

↑: Jeweils 2 ml, Gesamtalkaloid-Endkonzentration 1 : 25 000.

↓: Auswaschen.

28°C



28°C

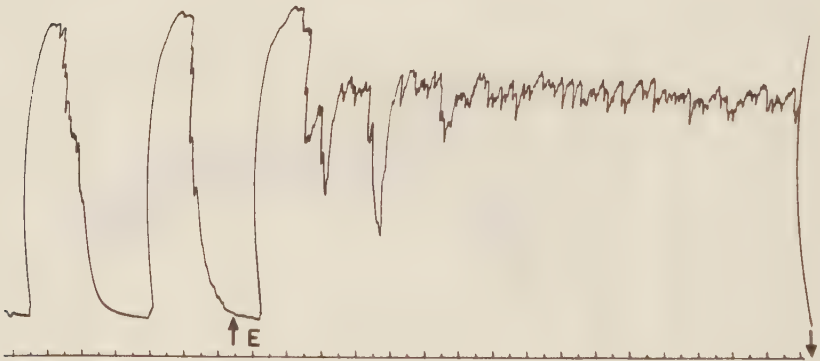


Abb. 38 b. Wirkung von Extraktlsg. E und Reinalkaloidlsg. RE am isolierten Kaninchendickdarm (Colon descendens) bei 28°C. Ringmuskel-Motilität desselben Präparats wie in Abb. 38 a.

↑ : Jeweils 2 ml, Gesamtalkaloid-Endkonzentration 1 : 25 000.
↓ : Auswaschen.

b. Tinctura Strychni

Die für die Dosis-Wirkungs- und für die Dosis-Zeit-Beziehung der Reinalkaloidlösung RT bzw. der Tinkturlösung T erhaltenen Versuchsergebnisse sind in den Tab. 20 u. 21 zusammengestellt und durch die Abb. 39 und 40 veranschaulicht.

Der Wirkungsvergleich zwischen diesen beiden Lösungen führte in fast allen wesentlichen Punkten prinzipiell zu demselben Resultat wie der Wirkungsvergleich zwischen der Reinalkaloidlösung RE und der Extraktlösung E:

1. Hier wie dort besteht bei den entsprechenden Lösungen derselbe Zusammenhang zwischen Dosis und Wirkungsstärke.

Bei gleichen Alkaloidkonzentrationen ist die tonussteigernde Wirkung des Galenikums bei 28°C stärker als die der Reinalkaloidmischung ($Q_h = 1,30$).

Der mittlere Temperaturkoeffizient der Wirkungsstärke ist beim Galenikum größer ($k_h = 1,72$) als bei der Reinalkaloidmischung ($k_h = 1,49$).

2. Hier wie dort ist auch der Zusammenhang zwischen Dosis und Reaktionszeit grundsätzlich derselbe.

Die Wirkung des Galenikums erreicht gegenüber derjenigen der Reinalkaloidmischung bei 38°C ihr Maximum langsamer ($Q_t = 1,24 - 1,30$), bei 28°C dagegen schneller ($Q_t = 0,82 - 0,92$).

Hinsichtlich der Reaktionszeit besitzt das Galenikum einen bedeutend kleineren mittleren Temperaturkoeffizienten ($k_t = 1,36$) als die Reinalkaloidmischung ($k_t = 1,99$).

(Siehe hierzu auch Abb. 41 a u. b.)

Tabelle 20. Wirkungsvergleich zwischen Tinctura Strychni (T) und Reinalkaloidgemisch (RT) am isolierten Kaninchendickdarm. (Dosierung entspr. 0,5 - 1 - 2 mg Gesamtalkaloide / 50 ml Badvol.)

Darm Nr.	0,5			1			2		
	RT	T	Q_h	RT	T	Q_h	RT	T	Q_h
	Höhe des maximalen Tonusanstiegs (in mm) und Höhenquotienten (Q_h) bei <u>38° C</u> :								
15/06	22,0	21,5	0,98	42,5	46,0	1,08	54,5	51,5	0,94
16/09	2,5	2,0	0,80	5,5	2,0	0,37	7,5	9,0	1,20
16/11	3,0	3,5	1,17	6,0	17,0	2,84	8,0	13,0	1,62
17/05	3,0	4,0	1,33	24,5	29,0	1,18	37,0	35,0	0,95
19/09	9,5	12,5	1,32	18,0	6,5	0,36	27,0	21,0	0,78
20/07	10,0	6,0	0,60	13,5	14,0	1,04	30,0	30,0	1,00
22/07	11,5	12,5	1,09	25,0	28,0	1,12	41,5	47,5	1,14
23/07	4,0	3,0	0,75	8,0	8,0	1,00	49,0	63,5	1,30
24/07	9,5	15,0	1,58	24,5	33,0	1,35	27,5	33,5	1,22
24/09	42,5	37,5	0,88	45,0	40,0	0,89	49,0	45,0	0,92
Mittel- werte	11,8	11,8	1,05 (1,00)	21,3	22,4	1,12 (1,05)	33,1	34,9	1,11 (1,05)
	Höhe des maximalen Tonusanstiegs (in mm) und Höhenquotienten (Q_h) bei <u>28° C</u> :								
15/06	24,0	38,5	1,60	42,0	55,0	1,31	67,0	58,0	0,87
16/09	16,5	22,5	1,36	7,0	19,5	2,79	8,0	13,0	1,63
16/11	21,5	32,0	1,49	27,5	18,0	0,65	20,5	21,5	1,05
17/05	10,0	26,5	2,65	56,0	61,0	1,08	42,0	52,0	1,24
19/09	33,0	46,0	1,39	51,5	55,5	1,08	54,5	56,0	1,03
20/07	25,0	26,0	1,04	31,0	29,5	0,95	25,0	27,5	1,10
22/07	2,0	3,0	2,00	14,5	14,5	1,00	35,5	41,5	1,17
23/07	15,5	21,5	1,39	28,5	25,5	0,90	44,0	61,0	1,39
24/07	6,0	11,0	1,83	28,5	29,5	1,04	45,0	46,5	1,03
24/09	42,0	45,0	1,07	45,0	49,0	1,09	67,5	55,0	0,82
Mittel- werte	19,6	27,2	1,58 (1,39)	33,2	35,7	1,19 (1,08)	40,9	43,2	1,13 (1,06)
k_h	1,66	2,31	-	1,56	1,60	-	1,24	1,24	-

Anmerkung wie bei Tab. 18/19.

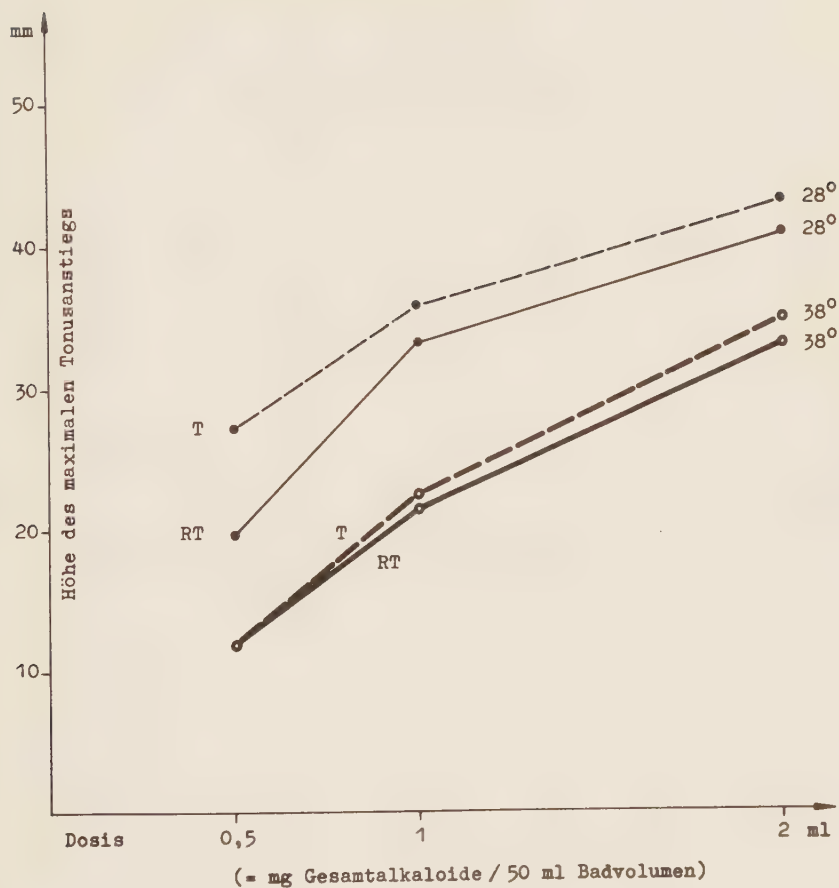


Abb. 39. Dosis-Wirkungs-Kurven von Tinkturlösung T und Reinalkaloidlösung RT. Isolierter Kaninchendickdarm.

Tabelle 21. Wirkungsvergleich zwischen Tinctura Strychni (T) und Reinalkaloidgegemisch (RT) am isolierten Kaninchendickdarm. (Dosierung entspr. 0,5 - 1 - 2 mg Gesamtalkaloide / 50 ml Badvol.)

Darm Nr.	0,5			1			2		
	RT	T	Q_t	RT	T	Q_t	RT	T	Q_t
	Zeit bis zum maximalen Tonusanstieg (in min) und Zeitquotienten (Q_t) bei <u>38°C</u> :								
15/06	1,7	3,6	2,12	1,7	2,8	1,65	2,0	4,1	2,05
16/09	6,1	10,9	1,79	9,0	4,2	0,47	5,2	5,5	1,06
16/11	4,4	5,8	1,32	6,6	11,4	1,73	11,0	11,7	1,06
17/05	4,8	5,1	1,06	5,3	12,8	2,42	5,3	8,5	1,60
19/09	5,9	4,7	0,80	6,3	6,9	1,09	3,7	2,0	0,54
20/07	3,7	4,6	1,24	7,6	4,6	0,61	3,8	1,2	0,32
22/07	3,1	5,2	1,68	2,8	3,9	1,39	0,9	1,2	1,33
23/07	4,5	5,0	1,11	5,4	7,5	1,39	6,7	6,8	1,02
24/07	3,7	4,3	1,16	2,9	4,1	1,41	2,0	2,1	1,05
24/09	4,1	2,4	0,59	3,7	3,1	0,84	1,6	3,7	2,37
Mittelwerte	4,2	5,2	1,29 (1,24)	5,1	6,1	1,30 (1,20)	4,2	4,7	1,24 (1,12)
	Zeit bis zum maximalen Tonusanstieg (in min) und Zeitquotienten (Q_t) bei <u>28°C</u> :								
15/06	15,2	13,2	0,87	8,8	6,5	0,74	2,6	2,1	0,81
16/09	10,9	4,0	0,37	8,2	5,7	0,70	7,0	4,3	0,61
16/11	12,0	10,2	0,85	8,5	5,2	0,61	5,6	5,2	0,93
17/05	15,0	16,8	1,12	8,5	8,3	0,98	16,4	10,8	0,66
19/09	10,9	10,7	0,98	8,5	9,6	1,13	7,1	5,3	0,75
20/07	7,7	6,5	0,84	3,0	5,3	1,77	3,0	3,9	1,30
22/07	12,0	12,0	1,00	7,7	7,7	1,00	5,3	5,4	1,02
23/07	14,7	10,1	0,69	9,2	6,2	0,67	8,0	7,1	0,89
24/07	8,7	6,2	0,71	12,9	7,0	0,54	2,1	3,6	1,72
24/09	10,9	8,4	0,77	8,3	5,8	0,70	5,8	3,2	0,55
Mittelwerte	11,8	9,8	0,82 (0,83)	8,4	6,7	0,88 (0,80)	6,3	5,1	0,92 (0,81)
k_t	2,81	1,88	-	1,65	1,10	-	1,50	1,09	-

Anmerkung wie bei Tab. 18/19.

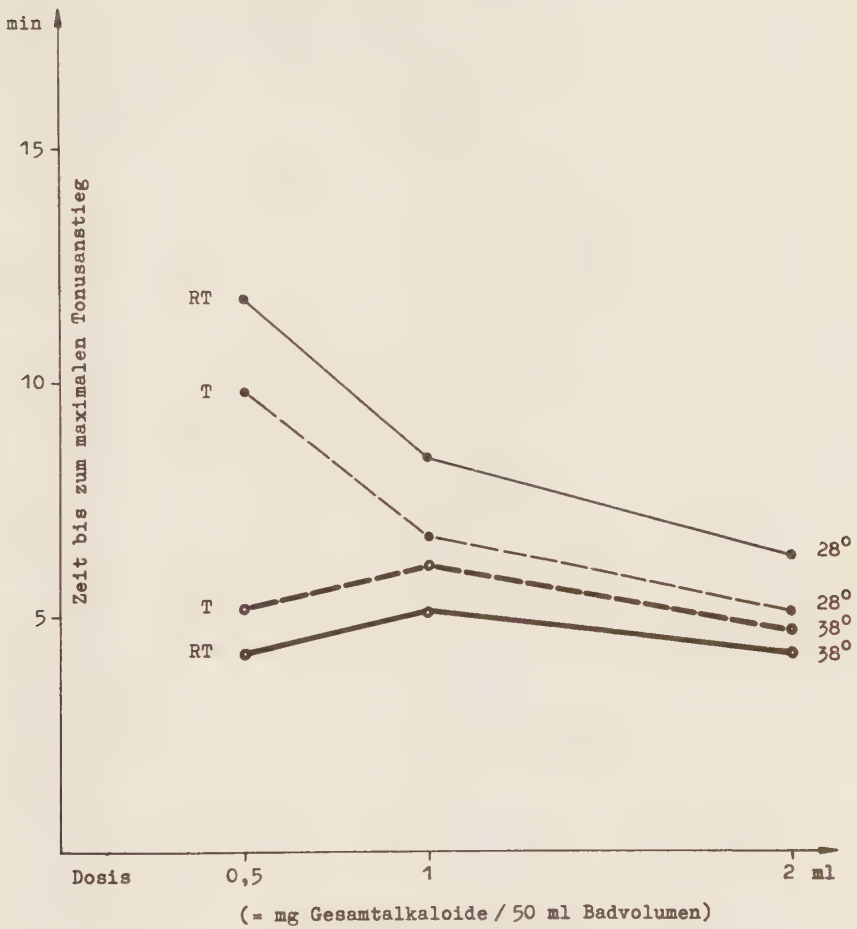


Abb. 40. Dosis-Zeit-Kurven von Tinkturlösung T und Reinalkaloidlösung RT. Isolierter Kaninchendickdarm.

38°C

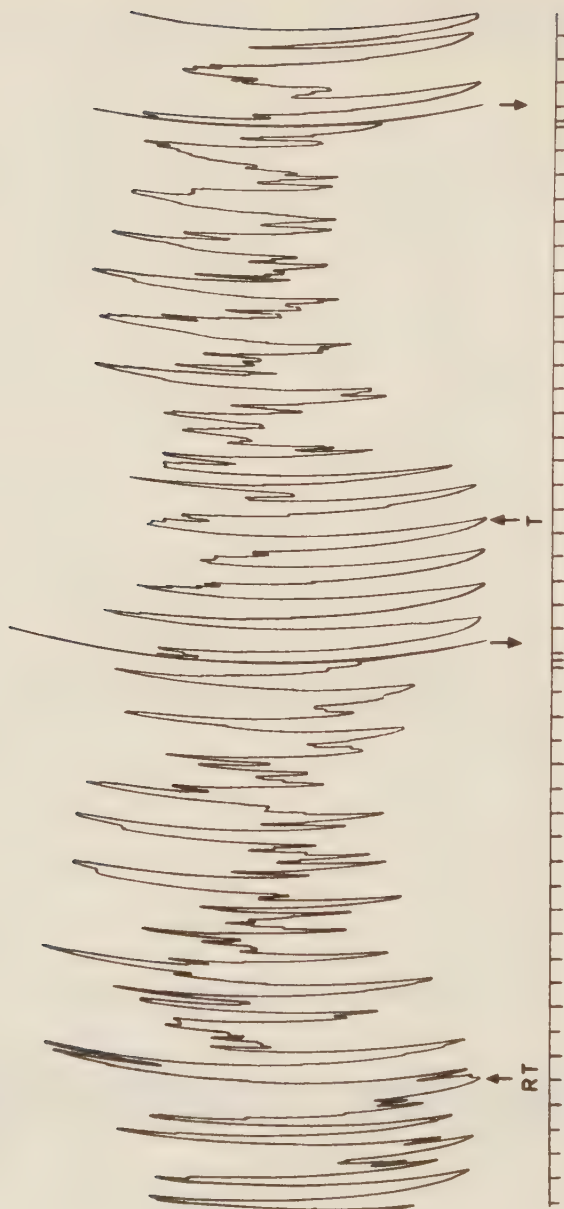


Abb. 41 a. Wirkung von Tinkturenlösung T und Reinalkaloidlösung RT am isolierten Kaninchendickdarm (Colon descend.) bei 38°C. Registrierung der Ringmuskelmotilität.
↑: Jeweils 0,5 ml; Gesamtalkaloid-Endkonzentration 1:100 000. ↓: Auswaschen.

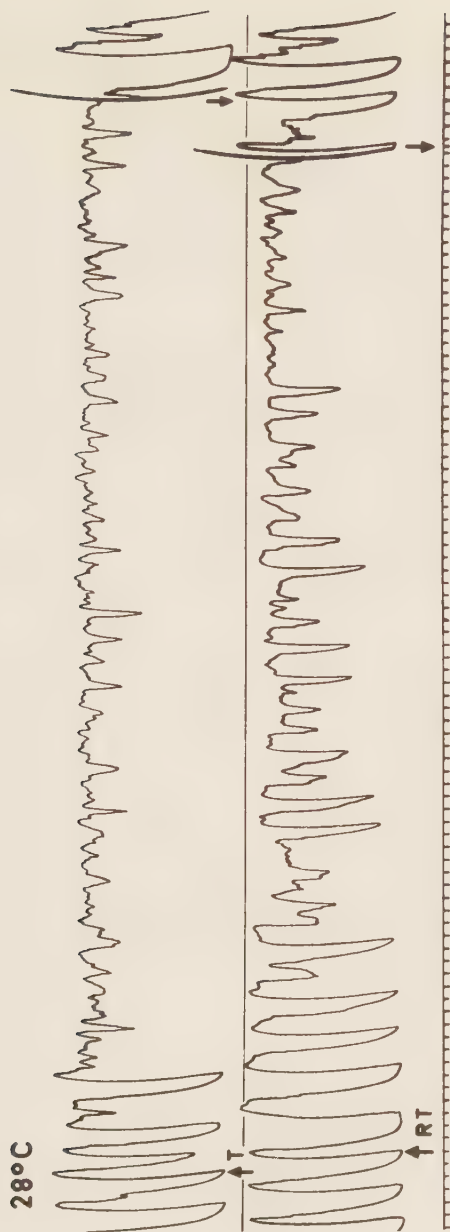


Abb. 41 b. Wirkung von Tinkurlösung T und Reinalkaloidlösung RT am isolierten Kaninchendickdarm bei 28°C. Ringmuskelmotilität desselben Präparats wie in Abb. 41 a.

↑ : Jeweils 0,5 ml; Gesamtalkaloid-Endkonzentration 1 : 100 000 . ↓ : Auswaschen.

Als Unterschied zwischen den Ergebnissen für Extractum und für Tinctura Strychni fällt auf, daß die Dosis-Wirkungs-Kurven der Galenika bei 38°C einander entgegengesetzt von den Dosis-Wirkungs-Kurven der entsprechenden Reinalkaloidmischungen abweichen (vgl. Abb. 36 u. 39). Während die Kurve der Extraktlösung E u n t e r der Vergleichskurve RE liegt, d.h. der Extrakt schwächer wirksam ist, verläuft die Kurve der Tinkturlösung T etwas o b e r h a l b der Vergleichskurve RT, d.h. die Tinktur ist wenig stärker als die Reinalkaloidmischung.

Da aber alle anderen am Dickdarm gewonnenen Resultate des Wirkungsvergleichs prinzipiell mit den am Dünndarm gewonnenen übereinstimmen und dort Tinktur u n d Extrakt bei 38°C dasselbe Verhalten gegenüber der entsprechenden Reinalkaloidmischung zeigten, hätte auch am Dickdarm eine Übereinstimmung der Wirkungsweisen beider Galenika erwartet werden können. Danach hätten hier die Dosis-Wirkungs-Kurven beider Galenikalösungen bei 38°C entweder nur über (wie am Dünndarm) oder nur unter den Kurven der entsprechenden Reinalkaloidlösungen liegen müssen. Das war jedoch nicht der Fall.

Eine Entscheidung darüber, welchem Kurvenbild unter diesem Gesichtspunkt die größere Wahrscheinlichkeit zukommt, den wahren Sachverhalt wiederzugeben, ergibt sich höchstens aus der Betrachtung der Streuungsgröße der Höhenquotienten von Tinctura und von Extractum Strychni; denn wie Tab. 20 erkennen läßt, streuen die Einzelwerte beim Tinkturvergleich erheblich stärker als beim Extraktvergleich. Auf Grund dieser Feststellung kann gefolgert werden, daß die Lage der Galenikum-Kurve zur Reinalkaloid-Kurve bei 38°C s o w i e sie beim Extraktvergleich gefunden wurde, die wahrscheinlich richtigere und für beide Galenika gültige ist.

c. Strychnin - Brucin

Beim Vergleich der Ergebnisse für Extractum und Tinctura Strychni fällt außerdem auf, daß die auf die Reaktionszeiten bezogenen Temperaturkoeffizienten der Reinalkaloidlösungen RE und RT sich unverhältnismäßig deutlich unterscheiden (im Mittel k_t von RE = 2,79; k_t von RT = 1,99). Die Gründe für diese Differenz konnten dieselben sein, wie sie bereits anhand der ähnlichen Dünndarmergebnisse diskutiert wurden (s. S. 120), d.h. die Differenz konnte entweder durch einen sehr großen Unterschied zwischen den entsprechenden Temperaturkoeffizienten von Strychnin und Brucin oder aber - wie beim Dünndarm - durch die Methodik bedingt sein. Es war deshalb auch für eine Erklärung der Dickdarmergebnisse von Interesse, die Relation von Strychnin- zu Brucinwirkung an diesem Testobjekt zu prüfen.

Das Resultat dieser Untersuchung, bei der gleiche Mengen Strychnin- bzw. Brucinsulfat (entspr. 0,5 - 2 mg Base / 50 ml Badflüssigkeit) an 6 Darmstücken nach demselben Schema wie bei den Galenika-Vergleichen zur Anwendung kamen, ist in Tab. 22 und in Abb. 42 u. 43 wiedergegeben und nachstehend zusammengefaßt.

Strychnin und Brucin rufen am überlebenden Kaninchendickdarm in Abhängigkeit von der Dosis das gleiche Bild einer mehr oder weniger stark tonussteigernden, erregenden Wirkung hervor, wobei sehr hohe Dosen stets zu einer spastischen Dauerkontraktion führen. Beide Alkaloide sind darüber hinaus in der Lage, atonische Zustände der Darmpräparate aufzuheben. Sie unterscheiden sich aber in quantitativer Hinsicht - teilweise erheblich - in folgenden Punkten:

1. Werden beide Alkaloide in gleichen Endkonzentrationen angewandt, so ist der maximale Tonusanstieg des isolierten Kaninchendickdarms nach Strychnin bei 38°C fast 3mal, bei 28°C sogar über 8mal größer als nach Brucin (Q_n 38°C = 2,74; Q_n 28°C = 8,39). Dieser Unterschied kommt besonders auffällig in den Dosis-Wirkungs-Kurven in Abb. 42 zum Ausdruck, die erkennen lassen, daß Brucin bei der tieferen Temperatur sogar an Wirksamkeit verliert (k_n = 0,53), während die Strychninwirkung durch Temperatur-

Tabelle 22. Wirkungsverhältnis Strychnin : Brucin
am isolierten Kaninchendickdarm.

Relation	Dosis (mg/50 ml):			Mittelwert
	0,5	1	2	
$Q_h \ 38^\circ$	1,97	3,04	3,20	2,74
$Q_h \ 28^\circ$	7,31	9,65	8,20	8,39
$\frac{k_h (S)}{k_h (B)}$	$\frac{1,36}{0,38}$	$\frac{1,32}{0,58}$	$\frac{1,09}{0,63}$	$\frac{1,26}{0,53}$
$Q_t \ 38^\circ$	1,35	1,14	1,10	1,20
$Q_t \ 28^\circ$	0,96	1,15	0,79	0,97
$\frac{k_t (S)}{k_t (B)}$	$\frac{5,64}{7,79}$	$\frac{3,74}{3,50}$	$\frac{1,87}{2,29}$	$\frac{3,75}{4,53}$

senkung deutlich an Stärke zunimmt ($k_h = 1,26$). Die Temperaturkoeffizienten der maximalen Hubhöhen von Strychnin und Brucin verhalten sich danach wie 1 : 0,42.

2. Demgegenüber weichen die Reaktionszeiten des Strychnins von denen des Brucins bei beiden Temperaturstufen nur unerheblich ab ($Q_t \ 38^\circ C = 1,10 - 1,35$; $Q_t \ 28^\circ C = 0,79 - 1,15$). Trotz der bei $28^\circ C$ teilweise enorm verlängerten Reaktionszeiten beider Alkaloide (z.B. k_t bei 0,5 mg Brucin = 7,79; s. obige Tabelle) verhalten sich ihre Temperaturkoeffizienten im Mittel nur wie 1 (Strychnin) : 1,21 (Brucin).

Dieser Unterschied zwischen den Temperaturkoeffizienten der Reaktionszeiten von Strychnin und Brucin ist aber nicht groß genug, um die bei den Reinalkaloidlösungen RT und RE gefundene Differenz der entsprechenden Koeffizienten (1,99 bzw. 2,79) mit der (geringfügigen) Abweichung in ihrer Zusammensetzung zu erklären. Umgekehrt hätten eher die viel stärker differenzierenden Temperaturkoeffizienten der Hubmaxima von Strychnin und Brucin einen bestimmten Unterschied

zwischen diesen Koeffizienten von RT und RE erwarten lassen können. Da aber auch das nicht zutraf - die Temperaturkoeffizienten k_h bei der Galenika stimmen fast überein ($RT = 1,49$; $RE = 1,55$) - müssen die am Dickdarm aufgetretenen Abweichungen in den Ergebnissen der Reinalkaloidlösungen ebenfalls auf die sehr verschiedene individuelle Empfindlichkeit der einzelnen Darmstücke zurückgeführt werden. Die Berücksichtigung dieses Faktors bei jedem einzelnen Vergleich (Verwendung desselben Darmstücks) gab jedoch auch hier die Gewähr für die Echtheit der gefundenen Unterschiede zwischen Galenika und Reinalkaloiden.

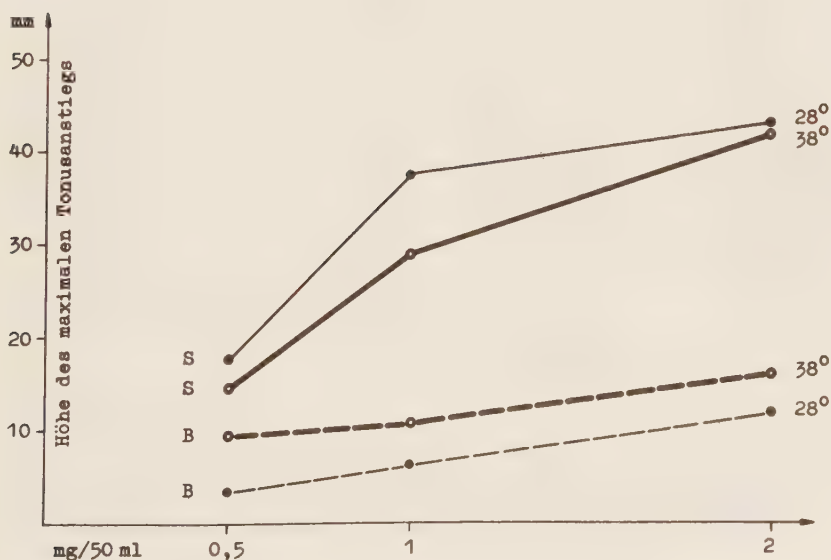


Abb. 42. Dosis-Wirkungs-Kurven von Strychnin (S) und Brucin (B), angewandt in Form der Sulfate. Isolierter Kaninchendickdarm.

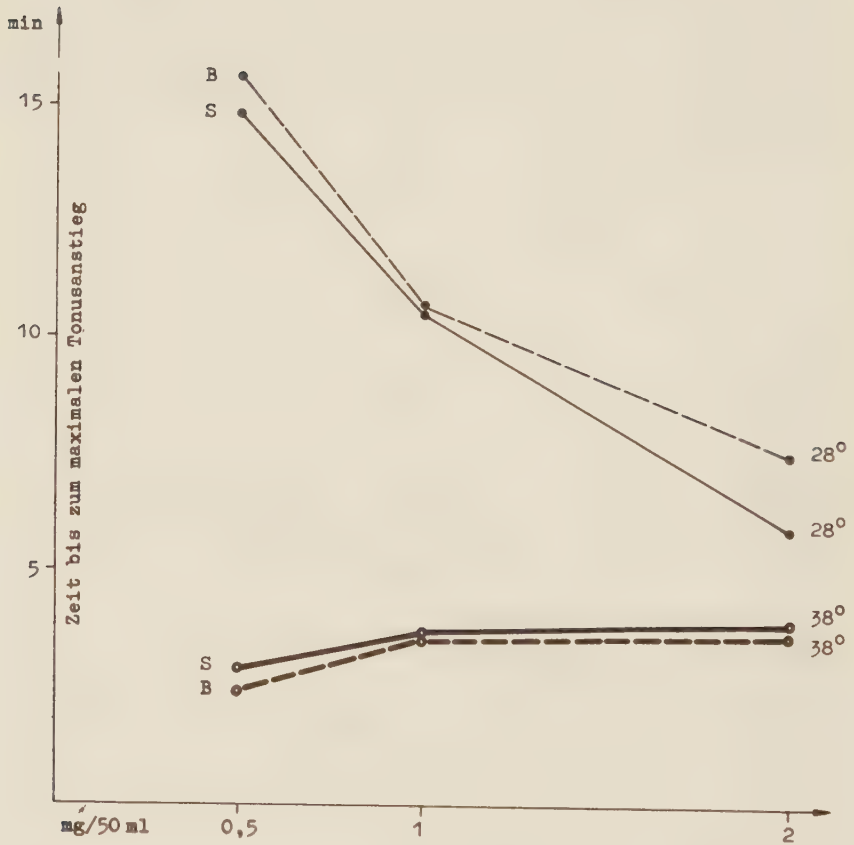


Abb. 43. Dosis-Zeit-Kurven von Strychnin (S) und Brucin (B), angewandt in Form der Sulfate. Isolierter Kaninchendickdarm.

d. Chlorogensäure

Die am überlebenden Dickdarm bei 38°C durchgeführten Versuche zeigten, daß die Chlorogensäure an diesem Testobjekt eine ganz andere Wirkung entfaltet als am überlebenden Dünndarm. Während der Dünndarm bei physiologischem Bad-pH auf Chlorogensäure stets mit Tonussteigerung reagiert, wird die Dickdarmmotilität unter den gleichen Bedingungen durch Chlorogensäure stets gehemmt und teilweise sogar gelähmt, wobei eine geringe Tonusabnahme eintritt (s. Abb. 44 a).

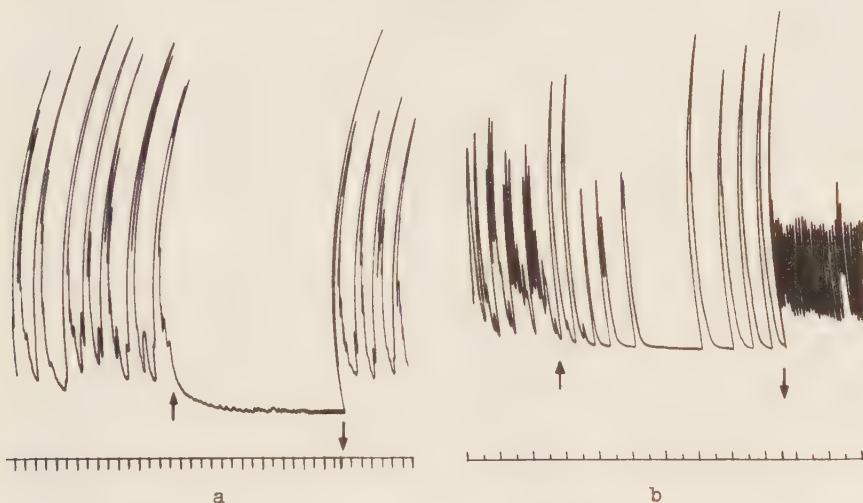


Abb. 44. Wirkung der Chlorogensäure am isolierten Kaninchen-dickdarm (Colon desc.). Registrierung der Ringmuskelmotilität.

↑ : Chlorogens., Endkonz. 1:1000. ↓ : Auswaschen. Pause 25'.

Die Empfindlichkeit des Dickdarms gegenüber Chlorogensäure ist wesentlich geringer als diejenige des Dünndarms: Erst Chlorogensäurekonzentrationen ab $2 \cdot 10^{-4}$ g/ml lassen eine Wirkung erkennen. (Wirksame Grenzkonzentration beim Dünndarm 10^{-6} g/ml.) Trotzdem kann der Dickdarm durch Chlorogensäure leichter geschädigt werden

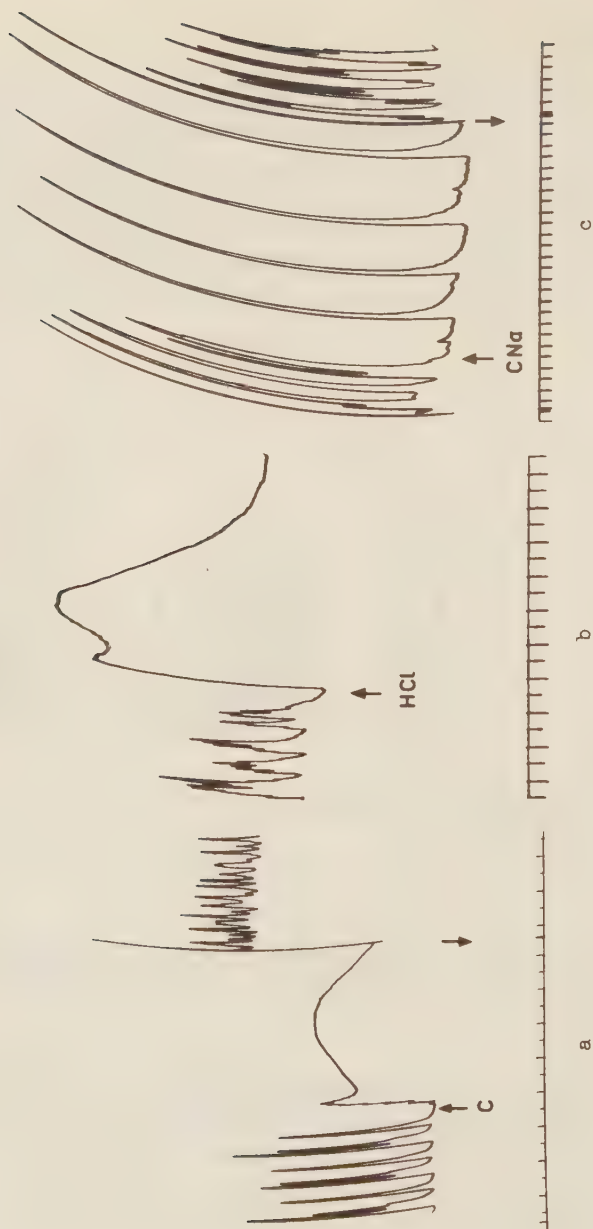


Abb. 45. Beweis der Säurewirkung hoher Chlorogensäure-Konzentrationen am isolierten Kaninchendickdarm (Colon descendens). a) $\uparrow$ C: Chlorogensäure, Endkonz. 1:100, pH 3,8. b) $\uparrow$ HCl: Salzsäure, Endkonz. 1:2000, pH 3,8. c) $\uparrow$ CNa: Natriumchlorogenat, entspr. einer Chlorogens.-Endkonz. v. 1:100, pH 7,4. a, c) $\uparrow$: Auswaschen. Gleiche Pausen.

als der Dünndarm. Während dort selbst bei der höchsten Konzentration von 10^{-2} g/ml die Chlorogensäurewirkung vollkommen reversibel ist und keinerlei Veränderungen der normalen Darmmotilität hinterläßt, verursachen am Dickdarm teilweise schon Konzentrationen von 10^{-3} g/ml Nachwirkungen, die sich erst nach sehr langer Erholungszeit und mehrmaligem Auswaschen des Präparats wieder beseitigen lassen. Sie bestehen in einer permanenten Tonus- und Frequenzsteigerung (s. Abb. 44 b).

Bei Anwendung der nicht neutralisierten Höchstkonzentration von 10^{-2} g/ml trat infolge des damit verbundenen pH-Sprungs der Badflüssigkeit von 7,4 auf 3,8 (s. S. 104) neben einer totalen Lähmung der Kontraktionen ein parabelförmiger Tonusan- und -abstieg auf (Abb. 45 a). Der Darm blieb danach irreversibel geschädigt. Diese Wirkung war mit der auf entsprechende Salzsäure-Applikation folgenden (Abb. 45 b) identisch und konnte wie am Dünndarm als ausschließlicher Säureeffekt charakterisiert werden: Dieselbe Dosis neutralisierter Chlorogensäure (Natriumchlorogenat) rief lediglich Hemmung und geringe Tonussenkung hervor (Abb. 45 c).

Die Prüfung, ob und inwieweit die Chlorogensäure auch am überlebenden Kaninchendickdarm die Strychninwirkung zu beeinflussen vermag, war in diesem Fall nur von theoretischem Interesse, denn die oben ermittelten Effektivdosen der Chlorogensäure ($> 2 \cdot 10^{-4}$ g/ml) lagen weit über den Mengen, in denen dieser Stoff bei Anwendung in Form von Extractum bzw. Tinctura Strychni auf das gleiche Testobjekt einwirkte (etwa 10^{-5} g/ml).

Chlorogensäurekonzentrationen von $2 \cdot 10^{-4}$ bis 10^{-2} g/ml, mit wirksamen Strychninkonzentrationen kombiniert, führten je nachdem, ob die Chlorogensäure gleichzeitig mit, vor oder nach der Strychninapplikation zur Anwendung kam, zu folgendem Ergebnis (s. hierzu die Abb. 46 a - c):

1. Wird Chlorogensäure gleichzeitig mit Strychnin appliziert, so wird Strychnin in seiner Wirksamkeit gehemmt, d.h. die Höhe des maximalen Tonusanstiegs wird verringert und der Eintritt des Wirkungsmaximums verzögert. Chlorogensäure-

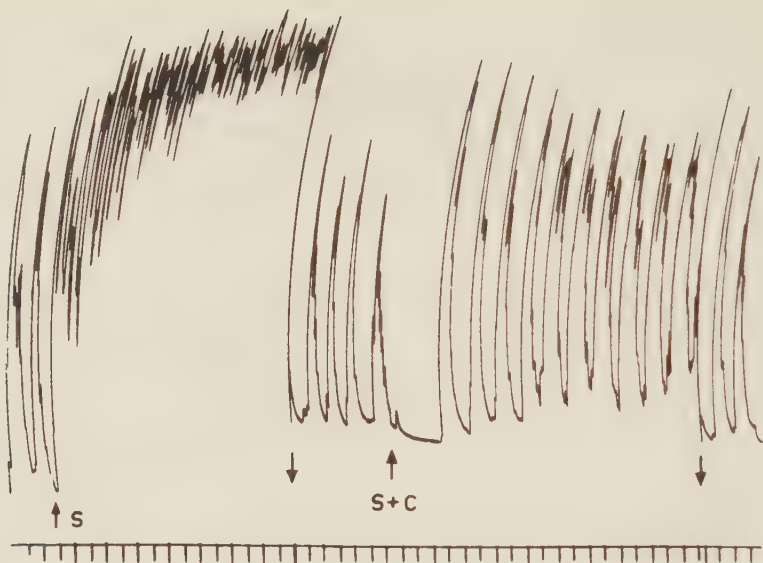


Abb. 46 a

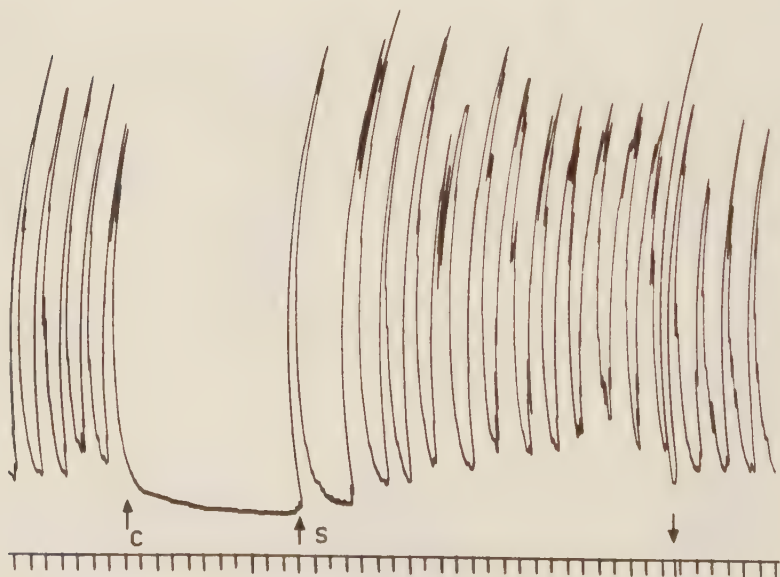


Abb. 46 b

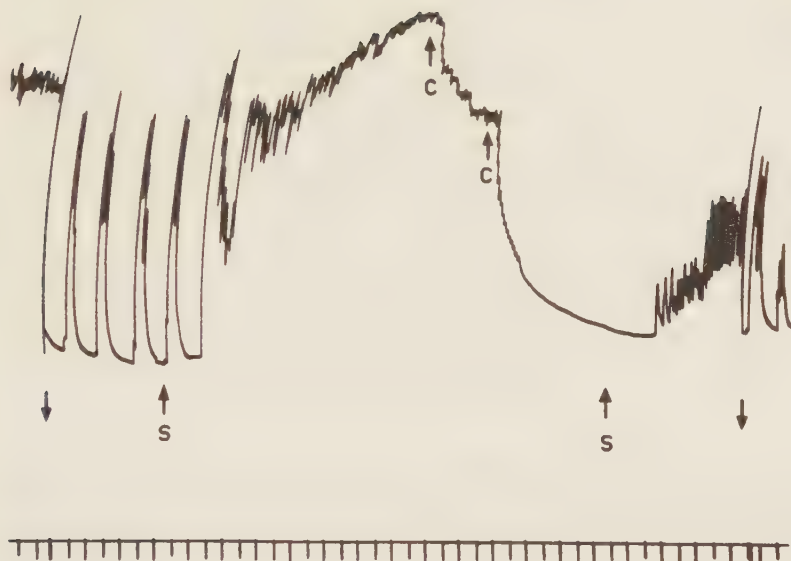


Abb. 46 c

Abb. 46 a-c. Einfluß der Chlorogensäure auf die Strychninwirkung am isolierten Kaninchendickdarm (Colon descendens).

Chlorogensäure-Applikation: a) gleichzeitig mit, b) vor, c) nach der Strychnin-Applikation.

↑ S: Strychninsulfat, Strychnin-Endkonzentration 1 : 25 000 .

↑ C: Chlorogensäure , Endkonzentration 1 : 2 000 .

↓ : Auswaschen.

konzentrationen ab $5 \cdot 10^{-4}$ g/ml können in diesem Fall die Strychninwirkung fast vollständig unterdrücken (Abb. 46 a).

2. Wird Chlorogensäure v o r Strychnin in solcher Dosis appliziert, daß völliger Stillstand der rhythmischen Darmbewegung mit gleichzeitiger Tonusabnahme erfolgt, so vermag Strychnin die lähmende Wirkung der Chlorogensäure aufzuheben; es kann aber darüber hinaus seinen charakteristischen Eigeneffekt in Form eines deutlichen Tonusanstiegs auch hierbei kaum durchsetzen (Abb. 46 b).
3. Wird umgekehrt Chlorogensäure n a c h voller Entfaltung der Strychninwirkung appliziert, so wird der durch Strychnin erhöhte Tonus desto stärker herabgesetzt, je höher die Chlorogensäurekonzentration ist, ohne daß freilich die normalen Darmkontraktionen sich wieder einstellen (Abb. 46 c).

Chlorogensäure und Strychnin sind also am überlebenden Kaninchendickdarm in typischer Weise antagonistisch wirksam. Dieser Antagonismus tritt jedoch erst unter solchen Chlorogensäurekonzentrationen in Erscheinung, wie sie bei der Prüfung der Galenikalösungen längst nicht vorlagen.

e. Loganin

Für Loganin konnte am überlebenden Kaninchendickdarm auch in der höchsten angewandten Konzentration von 10^{-2} g/ml weder eine Eigenwirkung noch irgendein die Strychninwirkung beeinflussender Effekt festgestellt werden.

III. Ganzfrosch (*Rana temporaria*)

1. Methodik

a. Tierhaltung und Versuchsanordnung

Aus den Ausführungen auf S. 93 ff. geht hervor, daß beim quantitativen Nachweis des Strychnins am Frosch mehrere Faktoren berücksichtigt werden müssen, um zu exakten und vor allem reproduzierbaren Ergebnissen zu gelangen. Wie jedoch das Schrifttum zeigt, ist dieses Erfordernis in den meisten Fällen außer acht gelassen worden, so daß sich die eigenen Untersuchungen im wesentlichen nur auf die von LOVETT (176), GITHENS (178) sowie WEISS und HATCHER (170) angewandten Methoden stützen konnten.

Diesen Untersuchungen lag der Plan zugrunde, zunächst den Dosenbereich einer Strychnin-Brucin-Mischung (1 : 1) zu ermitteln, innerhalb dessen Temporarien unter bestimmten Versuchsbedingungen gerade noch spontan in Tetanus fielen. Dieser Dosenbereich sollte 5-6 in gleicher Folge sich unterscheidende Dosen umfassen und so gewählt werden, daß innerhalb von Froschgruppen zu je 6 Tieren bei der niedrigsten Dosis möglichst wenige und bei der höchsten Dosis möglichst alle Frösche die typische Krampfreaktion zeigten. Nach Festlegung dieses Dosenbereichs sollte für jedes Galenikum und jede entsprechende Reinalkaloidmischung dieselbe in gleicher Weise angeordnete Anzahl Tiere zur Verfügung stehen und mit den übereinstimmenden äquivalenten Alkaloid-Mindestdosen injiziert werden. Die jeweils für das Galenikum bzw. die entsprechende Reinalkaloidmischung insgesamt festgestellte Anzahl der Tetanus-Fälle sollte miteinander verglichen werden.

Ferner sollten, bei gleicher Versuchsanordnung, unter Anwendung h ö h e r e r Alkaloiddosen diejenigen Zeiten von Galenikum und entsprechendem Reinalkaloidgemisch ermittelt werden, die von ihrer Injektion bis zum Eintritt des spontanen Tetanus verstrichen (Latenzzeiten).

Beide Versuchsreihen sollten außerdem bei zwei Temperaturstufen

und möglichst auch im Kreuztest (wechselweise Injektion der Froschgruppen mit Galenikum und Reinalkaloiden) durchgeführt werden. - Das nachstehende Schema (Abb. 47) veranschaulicht den so geplanten Wirkungsvergleich.

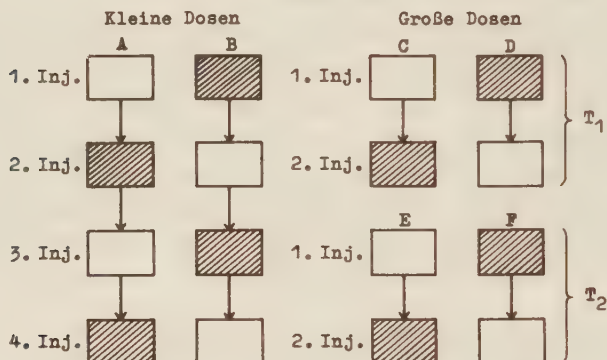


Abb. 47. Versuchsschema zum Wirkungsvergleich zwischen Reinalkaloidmischung ($\square$) und Galenikum (schraffiert) am Frosch bei zwei Temperaturstufen (T_1, T_2).

Reihe A u. B: jeweils 6 Froschgruppen zu je 6 Tieren.
Reihe C - F: jeweils 5 Froschgruppen zu je 6 Tieren.

Dieser Plan erforderte zu seiner Durchführung verschiedene besondere Maßnahmen.

Um vor allem ein möglichst einheitliches Tiermaterial zur Verfügung zu haben, wurden für die erste Versuchsreihe (kleine Dosen) Mitte Januar 1962 etwa 200 und für die zweite Versuchsreihe (große Dosen) Anfang März 1962 etwa 150 männliche Temporarien im Gewicht zwischen 20 und 50 g von einem Händler bezogen. Mit den eigentlichen Versuchen, die von Ende Januar bis Anfang Mai 1962 dauerten, wurde jeweils erst nach einer Akklimatisationszeit der Tiere von mindestens einer Woche begonnen.

Zur Akklimatisation (und auch zur restlichen Erholung zwischen den einzelnen Injektionen) wurden die Frösche in Gruppen zu je 6 Tieren in Glasgefäßen von den Ausmaßen 120 x 210 x 325 mm gehalten, die

mit Holzrosten abgedeckt wurden. Der Boden dieser Glasgefäße war etwa 2 cm hoch mit Leitungswasser bedeckt und außerdem mit einem Stück Ziegelstein versehen, so daß den Fröschen auch ein Aufenthalt außerhalb des Wassers möglich war. In etwa 2 cm Abstand vom Boden war eine Stirnwand des Gefäßes durchbohrt und mit einem Abflußstutzen aus PVC versehen. Stets in dünnem Strahl zulaufendes Frischwasser konnte deshalb den Wasserstand im Gefäß nicht erhöhen. Die eventuelle Verstopfung der Ausflußöffnung durch einen Froschleib wurde durch vorsichtiges Davorschieben des Ziegelsteins verhindert. Zusätzlich zur ständigen Frischwasserversorgung wurden die Frösche täglich mindestens einmal zwecks gründlicher Säuberung mit kräftigem Wasserstrahl abgespült.

Zum eigentlichen Versuch wurden die Frösche - gruppenweise geordnet - einzeln auf große, flache Teller gesetzt und mit nummerierten Glasglocken (Käseglocken) bedeckt, die zwecks Luftzufuhr und zur Vermeidung unerwünschter Erschütterungen (krampfauslösendes Moment) an ihrem Rand mit drei Gummipuffern (aufgeschnittene Druckschlauchstücke) versehen waren. Auf jeden Teller wurden etwa 10-20 ml Wasser zur Feuchthaltung der Tiere gegeben. Die so aufbewahrten Frösche wurden anschließend (und auch während der gesamten Versuchsdauer) einer dauernden Beleuchtung mit konstantem Neon-Licht ausgesetzt, um dadurch die Versuche unter gleichen optischen Reizbedingungen für die Tiere zu jeder Tageszeit durchführen zu können.

Etwa 24 Stunden nach dieser Vorbereitung wurden die Frösche nacheinander durch vorsichtigen Fingerdruck in die Flanke von ihrem Blaseninhalt befreit, mit einem Tuch abgetrocknet, auf 0,1g genau gewogen und schließlich wieder auf die feuchten Teller gesetzt. Nachdem sie sich dort ungefähr 1 Stunde aufgehalten und in einem Vortest gesunde Reflexe gezeigt hatten, wurden die Tiere nacheinander unter der Glasglocke hervorgeholt, mit der Galenikum- oder Reinalkaloid-Lösung in den Brustlymphsack gespritzt und sofort wieder vorsichtig unter die Glocke gesetzt. Sämtliche akustischen und taktilen Reize wurden danach so weit wie möglich unterdrückt.

Die vergifteten Tiere, deren Reaktionen genau beobachtet und vermerkt wurden, wurden - gleichgültig, ob sie in Tetanus gefallen waren oder nicht - so lange auf den Tellern isoliert gehalten, bis an ihnen die letzten deutlichen Merkmale erhöhter Reflexerregbarkeit

verschwunden waren. Während dieser Zeit wurde ihnen täglich zweimal die Blase ausgedrückt und das Wasser auf den Tellern erneuert. Dies war einmal wegen der durch das Strychnin bedingten Harnretention nötig, zum anderen aber auch deshalb, um zu verhindern, daß das im eventuell freiwillig abgegangenen Harn mitausgeschiedene Strychnin wieder durch die hierfür leicht permeable Froschhaut (205) resorbiert wurde und damit erneut zur Wirkung kommen konnte. Hatten die so behandelten Frösche ihre letzte deutliche Reflexerregbarkeit verloren, wurden sie wieder in das ihnen zugehörige Glasgefäß gesetzt und dort zur Erholung bis zum nächsten Versuch gehalten.

Diese Erholungsphase zwischen abgeklungener Reflexsteigerung und erneuter Vergiftung wurde nach Maßgabe der angewandten Alkaloiddosen verschieden lang festgelegt. In den Versuchsreihen A und B (kleine Dosen) dauerte sie 12-14 Tage, in den Versuchsreihen C-F (große Dosen) 20-25 Tage. Auf diese Weise war es möglich, den Tiergruppen der Reihen A und B insgesamt 4 und den Tiergruppen der Reihen C-F je 2 verschiedene Injektionen (Reinalkaloidmischung und Galenikum jeweils im Wechsel) zu verabfolgen. Der dadurch realisierte Kreuztest war für die vorliegende Arbeit deshalb von besonderer Bedeutung, weil nur damit im Rahmen des zur Verfügung stehenden (begrenzten) Tiermaterials eine hinreichend genaue Aussage bezüglich eines Wirkungsunterschiedes zwischen galenischer Zubereitung und Alkaloidreinsubstanz gemacht werden konnte. Diese Bedingung ergibt sich zwangsläufig aus der individuell verschiedenen Empfindlichkeit der Versuchstiere, die selbst bei weitestgehender Übereinstimmung der Existenzbedingungen nicht eliminierbar ist. Bei Anwendung eines zahlenmäßig ungenügend großen Tiermaterials könnten deshalb parallel angelegte Versuche mit zwei zu vergleichenden Stoffen leicht zu Fehlschlüssen führen, die aber - wie im vorliegenden Fall - vermieden werden, wenn diese Stoffe nacheinander an denselben Tieren, d.h. bei gleicher individueller Empfindlichkeit, geprüft werden. - Es wurde also am Ganzfrosch prinzipiell dasselbe Versuchsschema angewandt wie bei den isolierten Darmpräparaten.

Desgleichen wurde bei den Froschversuchen auch bei zwei Temperaturstufen gearbeitet, nämlich bei 16° und 22°C. Diese Stufen wurden deshalb gewählt, weil einerseits eine Temperatur von 16°C etwa

den normalen Durchschnittsbedingungen der natürlichen Umwelt des Frosches entspricht, und weil andererseits in genügend großem Abstand von dieser Temperatur unter den gegebenen Möglichkeiten nur eine solche von 22°C angewandt werden konnte. Die für die vergleichenden Versuche unbedingt erforderliche Konstanz dieser beiden Temperaturstufen wurde mit einfachsten Mitteln gewährleistet. Der Raum, der für die Versuche bei der niedrigen Temperaturstufe diente, blieb während der kühlen Jahreszeit, in der diese Versuche durchgeführt wurden, ungeheizt und hielt aufgrund seiner günstigen Isolierung im Verlauf aller Versuche eine Temperatur von $16^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Der Raum, in dem die Untersuchungen bei der höheren Temperaturstufe vorgenommen wurden, hielt dagegen durch geregelte Beheizung mit einem elektrischen Thermolüfter eine Temperatur von $22^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Unter den genannten Bedingungen war die Sterbequote der Versuchstiere relativ gering. Sie betrug trotz wiederholter Strychninapplikation bei Anwendung kleiner Dosen etwa 15% und bei Anwendung großer Dosen im Durchschnitt 30%. Die durch Exitus ausfallenden Frösche wurden nicht durch neue ersetzt, um die Bedingungen des Kreuztests voll zu wahren. - Frösche, die alle Injektionen ohne Schaden überstanden hatten, wurden nach völligem Abklingen der letzten Vergiftungserscheinungen an einem Weiher in Freiheit gesetzt.

b. Pharmaka-Lösungen und Dosierung

Sämtliche für die Froschversuche vorgesehenen Lösungen der Galenika und Reinkalkaloide wurden prinzipiell in gleicher Weise hergestellt wie die bei den Darmversuchen angewandten entsprechenden Lösungen. Es wurden deshalb auch dieselben Abkürzungen gebraucht, nämlich "E" und "T" für die Galenika-Lösungen und "RE" und "RT" für die Reinkalkaloidlösungen. - Die zu den Froschversuchen benutzten Pharmaka-Lösungen wiesen lediglich andere Konzentrationen auf und wurden auch anders dosiert.

Die Konzentration der Lösungen richtete sich nach dem bei Anwendung der Brustlymphsack-Applikation praktikablen Injektionsvolumen, das

sich nach FÜHNER (172) in den Grenzen von 0,5 - 3 ml bewegen soll, in den eigenen Versuchen aber nie 1 ml überschritt. Zur Prüfung kleiner Alkaloidmengen (0,8 - 2,3 γ Gesamtalkaloide / g Frosch) dienten Lösungen mit einem Gehalt von 0,01 bzw. 0,02% Gesamtalkaloiden, während die zur Prüfung großer Alkaloidmengen (3,0 - 36,0 γ Gesamtalkaloide / g Frosch) vorgesehenen Lösungen 0,05 bzw. 0,2% Gesamtalkaloide enthielten.

Die exakte Dosierung dieser Lösungen, die mit Hilfe einer Mikrospritze auf 0,01 ml genau möglich war, richtete sich stets nach dem kurz vor der Injektion festgestellten Gewicht der Frösche und wurde jeweils aus der anzuwendenden Gesamtalkaloidmenge pro Gramm Frosch errechnet.

c. Pharmakologische Analyse

Nach den Untersuchungen von LOVETT (176) und GITHENS (178) läßt sich die quantitative biologische Bestimmung des Strychnins am Frosch grundsätzlich auf zweierlei Weise durchführen:

Erstens kann man der Auswertung die Zeit zugrunde legen, die von der Injektion einer bestimmten Strychnindosis bis zum Auftreten des ersten Tetanus-Anfalls verstreicht (Latenzzeit), und zweitens kann man diejenige Strychninmenge als Maßstab benutzen, die unter bestimmten Versuchsbedingungen gerade noch den typischen Streckkrampf hervorruft (Minimaldosis)⁺). Nach WEISS und HATCHER (170) ist die letztere Bestimmungsmethode auch dann möglich, wenn nicht der Tetanus, sondern das durch erhöhte Reflexerregbarkeit charakterisierte Prodromalstadium strychninvergifteter Frösche als Bewertungskriterium gewählt wird.

⁺) Da diese Minimaldosis keine feststehende Größe, sondern eine Dosenzone darstellt, innerhalb deren der Prozentsatz der betroffenen Tiere in den einzelnen Tiergruppen mit der Dosis gesetzmäßig variiert, ist es genauer, die Abhängigkeit dieses Prozentsatzes von der Dosis in diesem Minimalbereich zu bestimmen.

Bei den eigenen Bestimmungen wurde die relative Wirksamkeit der Galenika-Lösungen gegenüber den Reinalkaloid-Lösungen sowohl mit Hilfe der Minimaldosen als auch mit Hilfe der Latenzzeiten ermittelt. In beiden Fällen bezog sich die Bewertung auf den scheinbar spontan, d.h. ohne taktile oder akustische Reize eintretenden Tetanus; im ersten Fall (Dosis-Wirkungs-Beziehung) auf jeden Anfall, nach dem die Hinterbeine des Frosches mindestens 5 Minuten lang gestreckt blieben; im zweiten Fall (Dosis-Zeit-Beziehung) auf den ersten schlagartig einsetzenden Anfall, nach dem der Froschkörper in völliger Streckung stunden- bis tagelang gelähmt verharnte (vgl. Abb. 15, S. 81).

Der zur Untersuchung der Dosis-Wirkungs-Beziehung mit einer Strychnin-Brucin-Mischung (1:1) bestimmte Dosenbereich, innerhalb dessen bei Froschgruppen zu je 6 Tieren die niedrigsten Dosen möglichst wenige und die höchsten Dosen möglichst alle Frösche pro Gruppe in Tetanus fallen ließen, lag unter den gegebenen Bedingungen bei 16° zwischen 1,0 und 1,5 γ Gesamtalkaloide pro Gramm Frosch. Die bei dieser Temperatur nach den eigenen Versuchen gefundene geringste tetanuserzeugende Dosis Strychnin betrug also - wenn man berücksichtigt, daß das Brucin am Frosch nur 1/80 mal so wirksam ist wie Strychnin (s. S. 86) - etwa 0,5 γ pro g *Rana temporaria* und stimmte damit mit den auf *Rana pipiens* bezogenen Angaben von GITHENS (178) gut überein.

Bei 22°C lag der so definierte Dosenbereich etwas höher, nämlich zwischen 1,2 und 1,7 γ /g Gesamtalkaloide.

Diese durch die minimale und maximale Häufigkeit der Tetanus-Fälle sehr eng begrenzten toxischen Zonen ließen nur eine sehr geringe Abstufung der einzelnen Dosen zu. In beiden Temperaturstufen mußten deshalb pro Pharmakon 6 Dosen angewandt werden, deren Folge sich nur um jeweils 0,1 γ /g Gesamtalkaloide unterschied.

Die sich aus der Dosis-Wirkungs-Beziehung ergebende relative Wirksamkeit der galenischen Brechnußzubereitungen gegenüber den entsprechenden Reinalkaloidgemischen wurde durch die Summe der im gesamten Dosenbereich eingetretenen Tetanus-Fälle bestimmt und zahlenmäßig durch den Effektquotienten Q_e ausgedrückt:

$$Q_e = \frac{\sum_{a=b}^b G}{\sum_a R}$$

$\sum$ = Summe der Tetanus-Fälle
 a = niedrigste Dosis
 b = höchste Dosis
 G = Galenisches Präparat
 R = Reinalkaloidmischung

Es war wichtig, die Versuchstiere nach Injektion der Minimaldosen bei 16°C lange genug zu beobachten, da unter diesen Umständen die der Auswertung zugrunde gelegten Krämpfe zum Teil erst nach mehr als 4 Stunden (!) auftraten.

Zur Untersuchung der Dosis-Zeit-Beziehung waren wesentlich höhere Alkaloiddosen erforderlich, um die als Maßstab dienenden Latenzzeiten in einen günstigen Beobachtungszeitraum zu verlegen.

Hierfür am meisten geeignet erwiesen sich Strychnin-Brucin-Dosen (1:1) zwischen 4 und 36 γ Gesamtalkaloide pro Gramm Frosch. Die nach diesen Dosen ermittelten Latenzzeiten lagen bei 16°C zwischen 68' 30" und 2' 30" und bei 22°C zwischen 19' und 2'. Sie wurden in der Weise gemessen, daß unmittelbar nach jeder Injektion und sofort beim Auftreten des ersten totalen Tetanus die entsprechende Zeit mit der Stoppuhr gestoppt und auf 15 sec genau notiert wurde.

Zum Vergleich der Galenika mit den entsprechenden Reinalkaloidgemischen wurde jede Lösung (E, T, RE und RT) den Froschgruppen C u. D bei 16°C und die Lösungen E und RE den Froschgruppen E u. F bei 22°C in je 5 Dosen (entsprechend 4, 9, 16, 25 und 36 γ Gesamtalkaloide pro g Frosch) injiziert (vgl. Abb. 47).

Da sich die einzelnen Frösche nicht kennzeichnen ließen, mußte auf eine absolute Gegenüberstellung der Einzelergebnisse verzichtet werden. Stattdessen wurde die Gegenüberstellung der Durchschnittswerte ganzer Gruppen als Grundlage des Vergleichs gewählt, wobei die Einzelwerte ihrer Größe nach geordnet wurden, um dadurch auch hinsichtlich ihrer Relation zueinander eine rasche Orientierung zu ermöglichen.

Zahlenmäßig ließ sich das aus der Dosis-Zeit-Beziehung ergebende

Verhältnis von Galenikum-Wirkung zu Reinalkaloid-Wirkung durch den aus den Durchschnittswerten ganzer Froschgruppen gebildeten Zeitquotienten Q_t ausdrücken:

$$Q_t = \frac{t_m \text{ Galenisches Präparat}}{t_m \text{ Reinalkaloidmischung}} \quad t_m = \text{mittlere Latenzzeit gleicher Dosen bei gleichen Tiergruppen.}$$

Die Temperaturkoeffizienten der Pharmaka-Wirkungen, hier k_e und k_t , wurden bei den Froschversuchen in gleicher Weise wie bei den Darmversuchen berechnet.

2. Versuchsergebnisse

a. Extractum Strychni

Die bei der Untersuchung der Dosis-Wirkungs-Beziehung nach der beschriebenen Methodik für die Reinalkaloidlösung RE und die Extraktlösung E erhaltenen Ergebnisse (Häufigkeit der Tetanus-Fälle bei toxischen Mindestdosen gleicher Alkaloidkonzentration) sind in Tab. 23 zusammengestellt.

Wie daraus hervorgeht, treten bei 16°C im Dosenbereich von 1,0 bis 1,5 γ/g Gesamtalkaloide nach E und RE im allgemeinen umso mehr Tetanus-Fälle pro Sechsergruppe ein, je größer die applizierte Dosis ist. Ein Unterschied zwischen der Extraktlösung und der Reinalkaloidlösung macht sich insofern bemerkbar, als die Summe der pro Dosenbereich eingetretenen Tetanus-Fälle beim Galenikum kleiner ist (21) als beim Reinalkaloidgemisch (29); der Effektquotient Q_e für Extractum Strychni beträgt danach bei 16°C 0,72.

Bei Temperaturerhöhung auf 22°C zeigten die Frösche eine herabgesetzte Krampfbereitschaft gegenüber beiden Alkaloidlösungen. Es mußten demgemäß entsprechend höhere Dosen zur Erreichung der geeigneten toxischen Zone gewählt werden. In diesem Dosenbereich, der zwischen 1,2 und 1,7 γ/g Gesamtalkaloide lag, zeigt sich bei 22°C

derselbe Zusammenhang zwischen Dosenstärke und Tetanushäufigkeit wie bei 16°C: Beide Lösungen rufen im allgemeinen umso mehr Tetani pro Sechsergruppe hervor, je stärker sie dosiert werden. Allerdings schrumpft der bei 16°C festgestellte Unterschied zwischen den verglichenen Lösungen bei 22°C stark zusammen: Der mittlere Effektquotient Q_e für Extractum Strychni beträgt hier nur 1,02. Bei 22°C ist also hinsichtlich der Dosis-Wirkungs-Beziehung kaum noch ein Unterschied zwischen Extrakt und Reinalkaloidmischung nachweisbar.

Für die Berechnung der Temperaturkoeffizienten k_e der bei 16° und 22°C ermittelten Effekte beider Lösungen mußte berücksichtigt werden, daß bei den verschiedenen Temperaturstufen auch innerhalb verschiedener Dosenbereiche gearbeitet worden war. Da die Berechnung dieser Koeffizienten aber nur auf der Basis identischer Dosenbereiche erfolgen kann, wurden den mit 1,0 - 1,5 γ/g Gesamtalkaloiden bei 16°C gewonnenen Resultaten nur die mit den gleichen Dosen bei 22°C gewonnenen Resultate gegenübergestellt. Die in Tab. 23 bei 22°C fehlenden Versuchsergebnisse mit 1,0 und 1,1 γ/g waren mit dem Wert Null einzusetzen.

Aus dieser Gegenüberstellung ergaben sich für die Temperaturkoeffizienten k_e folgende Zahlenwerte: für die Reinalkaloidlösung 2,90 und für die Extraktlösung 1,62.

Die bei der Untersuchung der Dosis-Zeit-Beziehung nach der beschriebenen Methodik für die Reinalkaloidlsg. RE und die Extraktlösung E ermittelten Latenzzeiten (s. Tab. 24 und Abb. 48) lassen bei 16°C neben der bekannten Dosenabhängigkeit, die in der Kurvendarstellung der eigenen Versuchsergebnisse sehr klar zum Ausdruck kommt, einen weiteren Unterschied zwischen Galenikum und Reinalkaloidmischung erkennen. Dieser besteht darin, daß bei allen angewandten Dosen nach Injektion der Extraktlösung der Tetanus stets später eintritt als nach Injektion der Reinalkaloidlösung. Wie die Dosis-Zeit-Kurven in Abb. 48 zeigen, kommt diese Verzögerung bei den beiden niedrigsten Dosen (4 und 9 γ/g) am deutlichsten zum Ausdruck. Die mittleren Zeitquotienten Q_t für Extractum Strychni bei 16°C liegen im Dosenbereich von 4 - 36 γ/g Gesamtalkaloide zwischen 1,58 und 1,11.

Tabelle 23. Wirkungsvergleich zwischen Extraktum Strychni und entspr. Reinkalkoldgemisch an Rana temporaria bei 16°C und 22°C (kleine Dosen); Anzahl e der pro Sechsergruppe mit Tetanus reagierenden Tiere.

Dosis (Gesamt- alkal.) γ/g	Reinkalkaloide			Extrakt			Effekt- quotient $Q_e = \frac{e_E}{e_{RE}}$
	Gruppe A1 1.Inj.	Gruppe B2 2.Inj.	Summe aus A1 + B2 Mittl. Anteil %	Gruppe B1 1.Inj.	Gruppe A2 2.Inj.	Summe aus B1 + A2 Mittl. Anteil %	
16°:							
1,0	1	3	33,3	2	1	3	25,0
1,1	2	0	16,7	0	1	1	8,3
1,2	3	1	33,3	1	0	1	8,3
1,3	4	1	41,7	1	3	4	33,3
1,4	4	2	50,0	2	2	4	33,3
1,5	5	3	66,7	4	4	8	66,7
Sa.	19	10	29	10	11	21	0,72
22°:							
1,2	1	1	16,7	3	1	4	33,3
1,3	1	1	16,7	0	1	1	8,3
1,4	0	2	16,7	3	0	3	25,0
1,5	2	2	33,3	3	2	5	41,7
1,6	5	2	58,3	4	3	7	58,3
1,7	6	4	83,3	3	5	8	66,7
Sa.	15	12	27	16	12	28	1,02
Temperaturkoeffizient: (s. Text)							
$k_e = 2,90$			$k_e = 1,62$				

Tabelle 24 a. Wirkungsvergleich zwischen Extractum Strychni und entspr. Reinalkaloidegemisch an Rana temporaria bei 16°C (große Dosen): Latenzzeit t bis zum Tetanuseintritt (in min u. sec), größenmäßig und nach Tiergruppen (Gr.) geordnet.

Dosis γ/g	Reinalkaloide			E x t r a k t			Zeit- quotient $Q_t = \frac{t_E}{t_{RE}}$
	Gr.	Einzel- werte	Mittelw. pro Gr.	Gr.	Einzel- werte	Mittelw. pro Gr.	
4	C 1a	11.30	18.40		kein Vergleich		-
		17.15					
		18.00					
		18.30					
		18.45					
		28.00					
	C 1b	16.00	24.00		kein Vergleich		-
		16.00					
		22.00					
		25.00					
		30.15					
		34.30					
	C 1c	15.15	32.00	C 2c	24.30	39.20	(1,23)
		19.30			25.00		
		61.15			68.30		
	D 2	7.00	13.40	D 1	17.45	29.20	(2,15)
		8.15			19.15		
		12.00			21.30		
		13.00			35.00		
		20.45			36.30		
		21.15			46.30		
Mittelwert		20.40			32.45		1,58
9	C 1a	6.45	13.10		kein Vergleich		
		8.00					
		11.30					
		17.00					
		22.30					
	C 1b	9.15	12.15	C 2b	8.15	17.00	(1,39)
		9.30			21.00		
		18.00			21.45		
	D 2	6.15	8.00	D 1	10.00	16.00	(2,00)
		6.45			11.00		
		7.00			13.30		
		7.15			19.15		
		9.45			21.00		
		10.45			21.15		
Mittelwert		10.45			16.20		1,52

Tab. 24 a. (Forts.)

16° C

Dosis γ/g	Reinalkaloide			E x t r a k t			Zeit- quotient
	Gr.	Einzel- werte	Mittelw. pro Gr.	Gr.	Einzel- werte	Mittelw. pro Gr.	Q _t
16	C 1	3.45 4.15 4.30 4.30 5.15 5.45 6.30	4.55	C 2	5.00 5.30 6.00 6.00 7.30 + +	6.00	(1,22)
	D 2	3.45 4.30 5.00 5.30 5.45 8.00		D 1	4.45 5.00 5.15 7.00 7.30 7.45		
Mittel- wert		5.10			6.05		1,18
25	C 1	4.00 4.15 4.15 4.30 4.30 4.30 7.15	4.45	C 2	4.30 4.30 4.45 5.00 6.30 6.45 +	5.20	(1,12)
	D 2	2.30 3.00 4.30 5.15 8.30 +		D 1	4.15 4.30 5.15 5.30 5.45 6.00		
Mittel- wert		4.45			5.15		1,11
36	C 1	3.30 3.45 4.00 4.15 4.15 5.15 6.00	4.25	C 2	3.15 3.30 4.15 4.15 6.00 8.00 +	4.55	(1,11)
	D 2	2.45 3.00 3.00 3.15 3.45 +		D 1	3.00 4.15 5.00 5.00 5.00 5.30		
Mittel- wert		3.55			4.45		1,21

Tabelle 24b. Wirkungsvergleich zwischen Extractum Strychni und entspr. Reinalkaloidgemisch an *Rana temporaria* bei 22° C (große Dosen): Latenzzeit t bis zum Tetanuseintritt (in minu. sec), größenmäßig und nach Tiergruppen (Gr.) geordnet.

Dosis γ/g	Reinalkaloide			E x t r a k t			Zeit- quotient Q_t
	Gr.	Einzel- werte	Mittelw. pro Gr.	Gr.	Einzel- werte	Mittelw. pro Gr.	
4	E 1	8.15 9.15 11.30 17.30 17.45 19.00	13.55	E 2	11.00 17.00 17.30 17.30 +	15.45	(1,13)
	F 2	7.15 9.15 17.30 17.45 +	12.55	F 1	10.15 15.00 15.45 16.00 17.45 18.45	15.35	(1,21)
Mittel- wert		13.30			15.40		1,16
9	E 1	4.00 5.30 6.15 6.45 7.00 9.30	6.30	E 2	4.00 4.45 5.30 8.45 11.00 +	6.50	(1,05)
	F 2	4.30 5.15 5.45 7.00 +	5.40	F 1	6.00 6.00 6.45 7.30 7.45 8.45	7.10	(1,26)
Mittel- wert		6.10			7.00		1,14

+ : Exitus nach der 1. Vergiftung

Tab. 24 b. (Forts.)

22° C

Dosis γ/g	Reinalkaloide			E x t r a k t			Zeit- quotient Q _t
	Gr.	Einzel- werte	Mittelw. pro Gr.	Gr.	Einzel- werte	Mittelw. pro Gr.	
16	E 1	3.30 4.45 5.00 5.15 5.30 6.15	5.00	E 2	3.45 4.30 5.00 5.00 + +	4.35	(0,92)
	F 2	3.00 4.30 5.30 5.45 + +	4.40	F 1	3.45 4.30 4.30 5.45 6.15 6.30	5.15	(1,12)
Mittel- wert		4.45			4.55		1,04
25	E 1	3.00 3.00 3.00 3.30 4.30 5.30	3.45	E 2	3.30 + + + + +		(0,93)
	F 2	2.30 3.00 + + + +	2.45	F 1	3.00 3.00 3.00 3.15 3.15 5.30	3.30	(1,27)
Mittel- wert		3.30			3.30		1,00
36	E 1	2.30 3.15 3.15 3.15 3.30 4.15	3.20	E 2	3.30 4.40 + + + +	4.05	(1,23)
	F 2	2.00 2.30 3.15 + + +	2.35	F 1	2.30 3.00 3.00 3.15 3.15 3.30	3.05	(1,19)
Mittel- wert		3.05			3.20		1,08

Abb. 48. Dosis-Zeit-Kurven von Extraktlösung E und
Reinalkaloidlösung RE. Ganzfrosch (*Rana temporaria*).

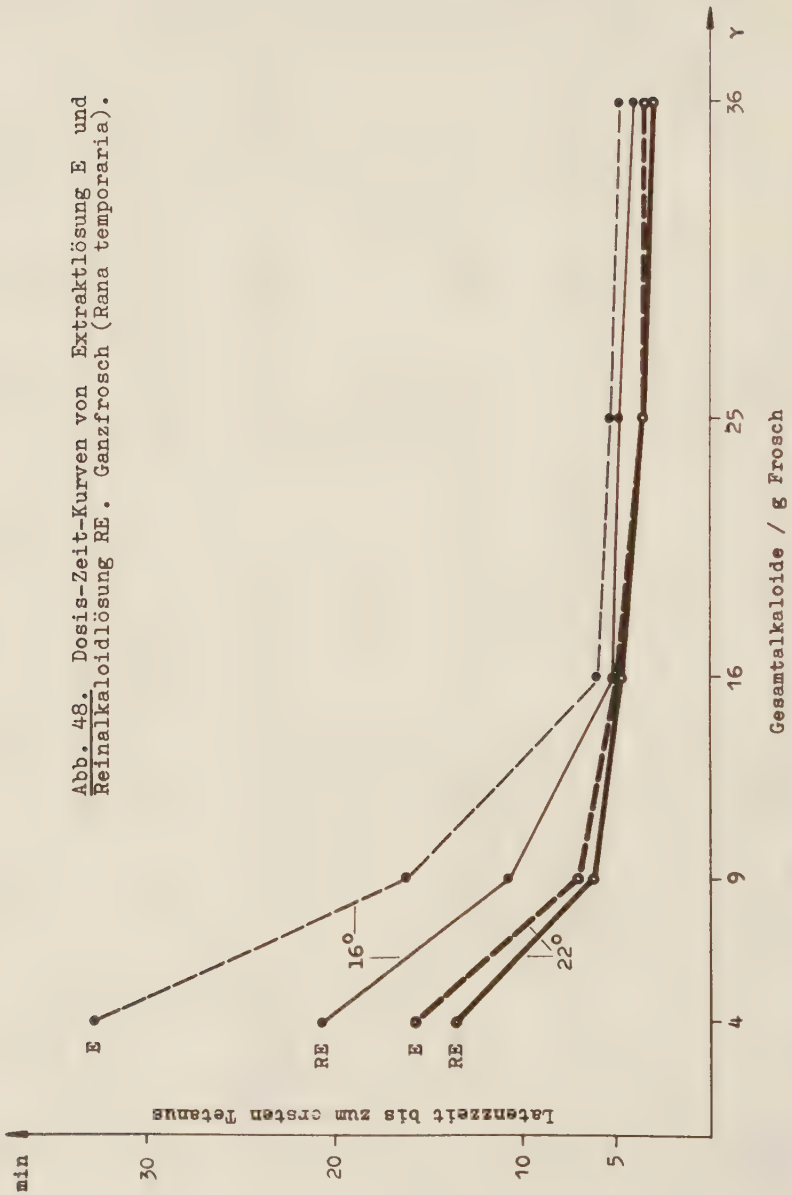


Tabelle 25. Temperaturkoeffizienten*) der mittleren Latenzzeiten t (in min u. sec) von *Extractum Strychni* und entspr. Reinalkaloidgemisch. (Vgl. hierzu Tab. 24 a/b.)

Dosis γ/g	Reinalkaloide			Ex t r a k t		
	$t\ 16^{\circ}$	$t\ 22^{\circ}$	k_t	$t\ 16^{\circ}$	$t\ 22^{\circ}$	k_t
4	20.40	13.30	1,53	32.45	15.40	2,09
9	10.45	6.10	1,74	16.20	7.00	2,33
16	5.10	4.45	1,09	6.05	4.55	1,24
25	4.45	3.30	1,36	5.15	3.30	1,50
36	3.55	3.05	1,27	4.45	3.20	1,43
Mittelwert			1,40			1,72

$$*) \quad k_t = \frac{t\ 16^{\circ}}{t\ 22^{\circ}}$$

Die bei $22^{\circ}C$ durchgeführten Versuche ergaben nicht nur durchweg kürzere Latenzzeiten als bei $16^{\circ}C$, sondern die Temperaturerhöhung hatte auch eine erhebliche Verminderung des Wirkungsunterschiedes zwischen Extrakt und Reinalkaloidmischung zur Folge: Die Zeitquotienten für *Extractum Strychni* liegen demgemäß wesentlich niedriger als bei $16^{\circ}C$ (Q_t bei $22^{\circ}C$ im Mittel zwischen 1,16 und 1,00).

Errechnet man aus den Latenzzeiten die Temperaturkoeffizienten (Tab. 25), so ergibt sich folgerichtig, daß die Latenzzeiten der Extraktlösung E einen größeren Temperaturkoeffizienten besitzen als die der Reinalkaloidlösung RE. Die Mittelwerte von k_t (RE) und k_t (E) verhalten sich wie 1,40 : 1,72 oder wie 1 : 1,23 [†]).

[†]) SCHLOMOVITZ u. CHASE (206), die den Einfluß der Temperatur auf die Latenzzeiten von Strychninsulfat an *Rana pipiens* im Bereich von 2° bis $36^{\circ}C$ untersuchten, fanden für dieses Alkaloidsalz den empirisch berechneten Temperaturkoeffizienten Q_{10} von 2,375. Nach diesen Autoren betrugen bei Injektion von jeweils 170 γ/g in den Rückenlymphsack die mittleren Latenzzeiten von Strychninsulfat bei $2^{\circ}C$ 565 sec und bei $36^{\circ}C$ 34 sec. (Kriterium: erster Tetanus.)

b. Tinctura Strychni

Da der Vergleich von Extrakt und Reinalkaloidgemisch sowohl hinsichtlich der Dosis-Wirkungs-Beziehung als auch hinsichtlich der Dosis-Zeit-Beziehung ergeben hatte, daß die bei 16°C bestehenden Unterschiede bei 22°C sich stark verringerten oder vollkommen aufhoben, konnte für den Tinktur-Vergleich ebenfalls angenommen werden, daß bei der höheren Temperatur lediglich eine Abnahme der bei der tieferen Temperatur möglicherweise eintretenden Wirkungsunterschiede erfolgen würde. Aus diesem Grund wurde die relative Wirksamkeit von Tinctura Strychni gegenüber der entsprechenden Reinalkaloidmischung an Fröschen nur bei 16°C ermittelt.

Die mit der Reinalkaloidlösung RT und der Tinkturlösung T bei der Untersuchung der Dosis-Wirkungs-Beziehung bei 16°C erhaltenen Ergebnisse zeigen eine bessere Gesetzmäßigkeit als die Ergebnisse des entsprechenden Extrakt-Vergleichs insofern, als fast ausnahmslos die Zahl der Tetanus-Fälle bei RT und T mit fortschreitender Dosis zunimmt (vgl. Tab. 23 u. 26). Ein sicherer Wirkungsunterschied zwischen Galenikum und Reinalkaloidgemisch ließ sich dabei nicht feststellen: Es stehen insgesamt 29 Tetanus-Fällen bei der Tinktur 30 Tetanus-Fälle bei der Reinalkaloidmischung gegenüber, entsprechend einem Effektquotienten Q_e für Tinctura Strychni von 0,97.

Die bei der Untersuchung der Dosis-Zeit-Beziehung für die Reinalkaloidlösung RT und die Tinkturlösung T bei 16°C gefundenen Latenzzeiten (s. Tab. 27 und Abb. 49) nehmen in gleich gesetzmäßiger Weise wie beim Extrakt mit zunehmender Stärke der angewandten Dosen ab. Die für die Tinktur ermittelten Latenzzeiten sind jedoch zumindest bei den drei niedrigsten Dosen (4, 9 und 16 γ /g Gesamtalkaloide) kürzer als die Latenzzeiten der Reinalkaloidmischung ($Q_t = 0,65 - 0,74$).

Dieser Unterschied steht im Gegensatz zu dem Ergebnis des Extrakt-Vergleichs; denn dort wurden bei 16°C für das Galenikum durchweg relativ längere Latenzzeiten gegenüber der Reinalkaloidmischung gefunden.

Tabelle 26. Wirkungsvergleich zwischen T i n c t u r a S t r y c h n i und entspr.
Reinalkaloidegemisch an R a n a t e m p o r a r i a bei 16° C (kleine Dosen):
Anzahl e der pro Sechsergruppe mit Tetanus reagierenden Tiere.

Dosis (Gesamt- alkal.) γ/g	Reinalkaloide			T i n k t u r			Effekt- quotient $Q_e = \frac{e_E}{e_{RE}}$
	Gruppe A1 1.Inj.	Gruppe B2 2.Inj.	Summe aus A1+B2 %	Gruppe B1 1.Inj.	Gruppe A2 2.Inj.	Mittl. Anteil %	
1,0	1	0	1	2	0	16,7	
1,1	1	1	2	3	0	25,0	
1,2	2	3	5	5	0	41,7	
1,3	3	5	8	2	2	33,3	
1,4	4	2	6	4	3	58,3	
1,5	5	3	8	3	5	66,7	
Sa.	16	14	30	19	10	40,3	0,97

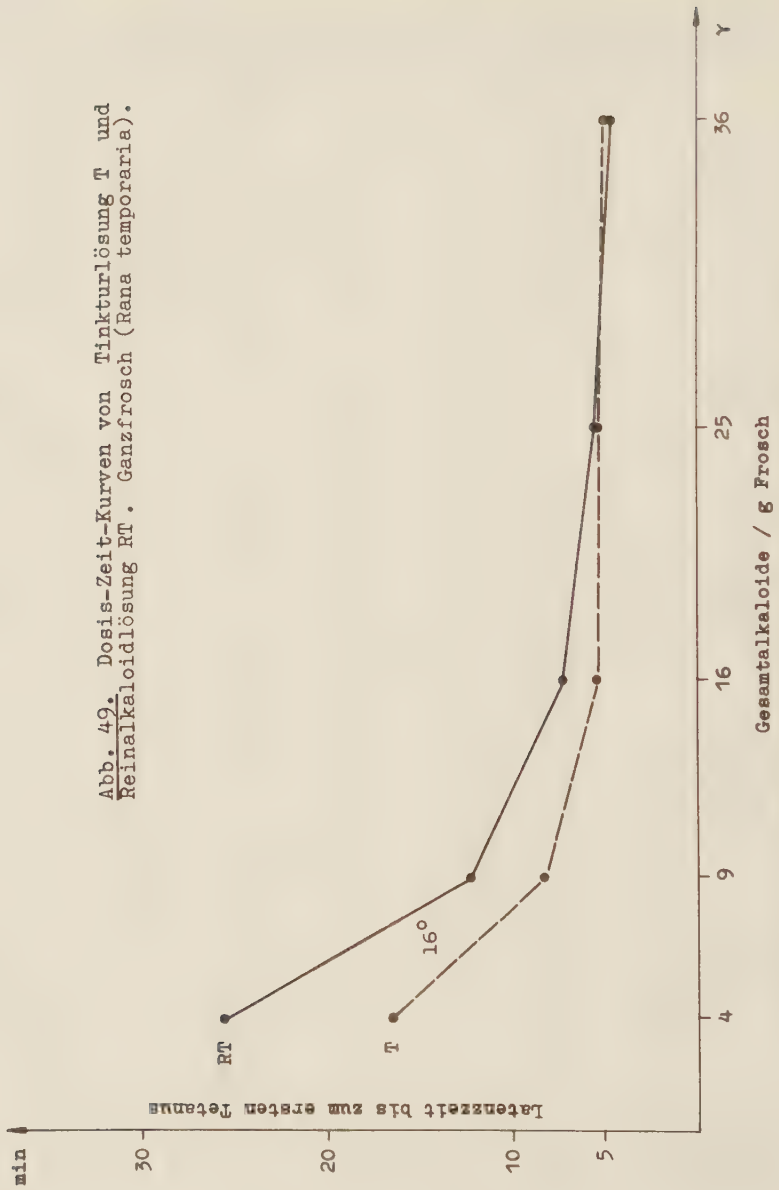
Tabelle 27. Wirkungsvergleich zwischen Tinctura Strychni und entspr. Reinalkaloidgemisch an Rana temporaria bei 16°C (gr. Dosen): Latenzzeit t bis zum Tetanuseintritt (in min u. sec), größenmäßig und nach Tiergruppen (Gr.) geordnet.

Dosis γ/g	Reinalkaloide			T i n k t u r			Zeit- quotient $Q_t = \frac{t_T}{t_{RT}}$
	Gr.	Einzel- werte	Mittelw. pro Gr.	Gr.	Einzel- werte	Mittelw. pro Gr.	
4	C 1	15.30	27.10	C 2	12.45	17.50	(0,66)
		18.45			15.15		
		19.30			15.30		
		20.00			19.15		
		41.15			22.00		
		47.45			22.15		
	D 2	17.30	24.30	D 1	11.45	15.30	(0,63)
		17.45			14.30		
		20.30			15.00		
		23.30			15.30		
		30.00			17.45		
		37.30			18.30		
Mittel- wert		25.50			16.40		0,65
9	C 1	7.00	13.05	C 2	6.30	8.45	(0,67)
		7.45			6.30		
		9.00			7.15		
		11.45			9.00		
		20.00			9.45		
		23.00			13.30		
	D 2	8.30	12.00	D 1	5.30	8.00	(0,67)
		9.15			7.00		
		9.30			7.00		
		10.45			7.45		
		16.45			8.45		
		17.00			11.45		
Mittel- wert		12.30			8.20		0,67

Tab. 27. (Forts.)

Dosis γ/g	Reinalkaloide			T i n k t u r			Zeit- quotient Q_t
	Gr.	Einzel- werte	Mittelw. pro Gr.	Gr.	Einzel- werte	Mittelw. pro Gr.	
16	C 1	5.00 5.15 5.45 6.45 7.30 10.30	6.50	C 2	3.45 4.00 4.15 4.30 4.45 10.15	5.15	(0,77)
	D 2	6.15 6.30 7.45 8.15 10.45 +	7.55	D 1	4.15 4.30 4.45 5.45 6.00 6.45	5.20	(0,67)
Mittel- wert		7.15			5.20		0,74
25	C 1	3.45 4.30 4.30 5.00 7.15 7.45	5.30	C 2	3.00 4.00 5.00 5.15 9.00 +	5.15	(0,95)
	D 2	3.45 4.45 5.15 5.45 7.45 +	5.25	D 1	3.30 4.00 5.15 5.45 6.00 7.45	5.25	(1,00)
Mittel- wert		5.25			5.20		0,98
36	C 1	3.15 3.45 3.45 4.15 5.45 5.45	4.25	C 2	2.30 3.15 4.15 4.15 6.00 +	4.05	(0,93)
	D 2	4.30 6.15 + + + +	5.25	D 1	4.30 4.45 5.15 5.30 6.30 6.30	5.30	(1,02)
Mittel- wert		4.40			4.50		1,04

Abb. 49. Dosis-Zeit-Kurven von Tinkturenlösung T und
Reinalkaloidlösung RT. Ganzfrosch (*Rana temporaria*).



Wie bereits in der Methodik angeführt, wurde bei allen Untersuchungen am Ganzfrosch zur Vermeidung von Fehlschlüssen im Kreuztest gearbeitet. Die dabei gewonnenen Resultate erlauben deshalb neben der Ermittlung der besprochenen Wirkungsrelationen die zusätzliche Beantwortung von zwei in ganz anderer Richtung liegenden, physiologisch interessanten Fragen:

1. Wird, unter der Voraussetzung derselben Versuchstemperatur und derselben Strychnindosis, die Anzahl der Tetanus-Fälle innerhalb derselben Froschgruppe bei der Zweitinjektion gegenüber der Erstinjektion charakteristisch verändert?
2. Verändern sich unter den gleichen Voraussetzungen die von der Strychnininjektion bis zum Tetanuseintritt verstreichenden Latenzzeiten bei zweitbehandelten Fröschen gegenüber erstbehandelten in charakteristischer Weise?

Ad 1). Hierauf geben die Tab. 23 u. 26 (Tetanushäufigkeit) eine klare Antwort. Wie der Vergleich der Spalten A1 - A2 und B1 - B2 zeigt, liegen die Werte in den Spalten A2 und B2 (Zweitinjektion) in den meisten Fällen unter den entsprechenden Werten in den Spalten A1 bzw. B1 (Erstinjektion), d.h. die Anzahl der Tetanus-Fälle innerhalb derselben Froschgruppe war bei der 2. Injektion kleiner als bei der 1. Injektion. Frösche, die mit Strychnin vorbehandelt wurden, nahmen also an Resistenz gegenüber diesem Pharmakon zu, oder, anders ausgedrückt: sie wiesen eine verminderte Krampfbereitschaft auf.

Die von vielen Autoren (z.B. 170) beschriebene Zunahme der Strychninempfindlichkeit bei wiederholter Injektion des Giftes konnte somit in den eigenen Untersuchungen nicht beobachtet werden.

Die einfachste Erklärung für diesen scheinbaren Widerspruch ist wohl die, daß die gesteigerte Strychninempfindlichkeit sehr leicht auf der kumulativen Wirkung des Strychnins beruhen kann, die verminderte Strychninempfindlichkeit aber wahrscheinlich auf die Erschöpfung der Glykogenreserve der Winterfrösche (171, 186) zurückzuführen ist. Während die Möglichkeit eines Kumulationseinflusses

durch die in der Methodik beschriebene Zwischenbehandlung der Frösche ausgeschaltet werden konnte, mußte die zweite Einflußmöglichkeit als biologischer Faktor in Kauf genommen werden.

Ad 2). Die Antwort auf diese Frage kann mit Hilfe eines Vergleichs der Latenzzeit-Quotienten ($t_{C2} : t_{C1}$ bzw. $t_{D1} : t_{D2}$, für die Reihen E und F entsprechend; s. eingeklammerte Werte in den Tab. 24 und 27) gegeben werden. Dieser Vergleich zeigt, daß die Werte, die sich auf das Verhältnis $D1 : D2$ (Erstinjektion : Zweitinjektion) beziehen, in den meisten Fällen über den Werten liegen, die sich auf das Verhältnis $C2 : C1$ (Zweitinjektion : Erstinjektion) beziehen. Das bedeutet, daß Frösche, die ein zweites Mal gespritzt wurden, später in Tetanus fielen als bei der Erstinjektion, oder - anders ausgedrückt -, daß vorbehandelte Frösche eine verzögerte Krampfbereitschaft aufwiesen.

Es ist möglich, daß diese verzögerte Krampfbereitschaft der bei der Untersuchung der Dosis-Wirkungs-Beziehung ermittelten Resistenzsteigerung der vorbehandelten Temporarien entspricht.

Beide Erscheinungen traten sowohl bei 16° als auch bei 22°C auf.

Für die mir bei der Vorbereitung der Froschversuche geleistete freundliche Hilfe sage ich der Tierpflegerin der Abteilung für Experimentelle Medizin, Frau E. ZINECKER, meinen aufrichtigen Dank.

Tabelle 28. Relative Wirksamkeit von Extractum und Tinctura Strychni.

Zusammenstellung aller gegenüber den entsprechenden Reinalkaloidgemischen am isolierten Kaninchendünndarm, am isolierten Kaninchendickdarm und am Ganzfrosch erhaltenen mittleren Zahlenwerte.

D ü n n d a r m			D i c k d a r m			F r o s c h		
Relation	Extrakt	Tinktur	Relation	Extrakt	Tinktur	Relation	Extrakt	Tinktur
$Q_s 38^\circ$	2,10	1,64	$Q_h 38^\circ$	0,88	1,09	$Q_e 22^\circ$	1,02	-
$Q_s 28^\circ$	1,77	1,50	$Q_h 28^\circ$	1,40	1,30	$Q_e 16^\circ$	0,72	0,97
$\frac{k_s(R)}{k_s(G)}$	$\frac{1,44}{1,15}$	$\frac{1,80}{1,65}$	$\frac{k_h(R)}{k_h(G)}$	$\frac{1,55}{2,00}$	$\frac{1,49}{1,72}$	$\frac{k_e(R)}{k_e(G)}$	$\frac{2,90}{1,62}$	-
$k(G)$ = Temperaturkoeffizient des Galenikums $k(R)$ = Temperaturkoeffizient des entsprechenden Reinalkaloidgemisches			$Q_t 38^\circ$	1,24	1,28	$Q_t 22^\circ$	1,08	-
			$Q_t 28^\circ$	0,71	0,87	$Q_t 16^\circ$	1,32	0,82
			$\frac{k_t(R)}{k_t(G)}$	$\frac{2,79}{1,58}$	$\frac{1,99}{1,36}$	$\frac{k_t(R)}{k_t(G)}$	$\frac{1,40}{1,72}$	-

Diskussion der Versuchsergebnisse

Die in der Einleitung aufgeworfene Frage nach einem experimentell nachweisbaren Wirkungsunterschied zwischen den Brechnuß-Galenika Extractum bzw. Tinctura Strychni DAB.6 und den Brechnuß-Reinalkaloiden Strychnin und Brucin hat durch die vorliegende Arbeit eine klare Beantwortung dahingehend gefunden, daß tatsächlich an allen drei gewählten Testobjekten (Ganzfrosch, isolierter Kaninchendünndarm und isolierter Kaninchendickdarm) ein solcher festzustellen war; er trat bei der Untersuchung der Dosis-Wirkungs-Beziehungen, der Dosis-Zeit-Beziehungen und schließlich bei der Ermittlung der Temperaturabhängigkeit der pharmakologischen Reaktionen in Erscheinung. (Übersicht der zahlenmäßigen Ergebnisse in Tabelle 28.)

E x t r a c t u m S t r y c h n i (E) erwies sich bei Prüfung der Dosis-Wirkungs-Beziehungen in der höheren Temperaturstufe am Kaninchendünndarm wesentlich stärker wirksam, am Kaninchendickdarm dagegen etwas schwächer wirksam als seine Reinalkaloid-Modellmischung (RE). Am Ganzfrosch wurde ein sicherer Unterschied in der Intensität der Wirkungen von E und RE nicht gefunden.

Bei Prüfung der Dosis-Zeit-Beziehungen, d.h. bei der Ermittlung jener Zeiten, die am Ganzfrosch zum Tetanus und am Kaninchendickdarm zum maximalen Tonusanstieg führten, brauchte E stets etwas länger, um diese Effekte zu erzielen, als RE.

Temperaturerniedrigung hatte sowohl bei E als auch bei RE eine Erhöhung der Wirksamkeit zur Folge. Demgemäß war bei beiden in der niedrigeren Temperaturstufe das Auftreten der Froschtetani vermehrt, die Tonussenkung des Kaninchendünndarms verstärkt und der maximale Tonusanstieg des Kaninchendickdarms erheblich vergrößert. In der Richtung, in der die Temperatursenkung die Wirkungsstärke beeinflusste, unterschieden sich also E und RE nicht. Dagegen bestand ein Unterschied in dem Ausmaß dieser Wirkungssteigerung zwischen E und RE insofern, als durch die Temperaturerniedrigung beim Ganzfrosch und am Kaninchendünndarm RE, am

Kaninchendickdarm aber umgekehrt E in seiner Wirkung mehr begünstigt wurde.

Der Einfluß der Temperaturerniedrigung auf die Reaktionszeiten am Frosch und am Kaninchendickdarm entsprach der allgemeingültigen Erfahrung, daß mit sinkender Temperatur sich chemische und biologische Reaktionszeiten stets verlängern. Das wurde also in gleicher Weise für den Einfluß der Temperaturerniedrigung auf die Reaktionszeiten von E wie auf die Reaktionszeiten von RE gefunden. Das Ausmaß der Verlängerung der Reaktionszeiten war in den Froschversuchen bei E ein ähnliches wie bei RE. Dagegen wurden am Kaninchendickdarm die Reaktionszeiten von E durch die Temperatursenkung viel weniger verlängert als die von RE.

T i n c t u r a S t r y c h n i (T) zeigte bei Prüfung der Dosis-Wirkungs-Beziehungen in der höheren Temperaturstufe am Kaninchendünndarm ebenfalls stärkere Wirksamkeit als ihre Reinalkaloid-Modellmischung (RT); das Ausmaß dieses Unterschiedes war aber gegenüber den analogen Verhältnissen beim Extrakt wesentlich kleiner. Am Kaninchendickdarm konnte ein sicherer Wirkungsunterschied zwischen T und RT nicht festgestellt werden.

Hinsichtlich der Dosis-Zeit-Beziehungen verhielt sich die Tinktur am Kaninchendickdarm ähnlich wie der Extrakt, d.h. auch hier waren die bis zur Erreichung des maximalen Tonusanstiegs verstreichenden Zeiten bei T etwas länger als bei RT.

Temperaturerniedrigung führte sowohl bei T als auch bei RT zu einer Wirkungsverstärkung am Kaninchendünndarm und -dickdarm. T und RT wurden also durch Temperatursenkung in der gleichen Richtung beeinflusst. Deutliche Unterschiede in dem Ausmaß dieser Beeinflussung traten nicht zutage. - Auf die Reaktionszeiten von T und RT am Kaninchendickdarm wirkte sich die Temperaturerniedrigung auch wieder im Sinne einer Verlängerung aus. Ähnlich wie beim Extrakt wurden aber die Reaktionszeiten von T weniger verlängert als diejenigen von RT.

Die Versuchsergebnisse der vorliegenden Arbeit beweisen deutlich,

daß sowohl im Falle von Extractum Strychni DAB.6 als auch im Falle von Tinctura Strychni DAB.6 zwischen Galenikum und entsprechender Reinalkaloid - Modellmischung charakteristische Wirkungsunterschiede bestehen.

Dagegen konnte ein grundsätzlicher Wirkungsunterschied zwischen den beiden Galenika untereinander nicht festgestellt werden. Soweit hierbei Unterschiede zutage traten, waren sie fast immer quantitativer Natur der Art, daß die Wirkungsdifferenz zwischen Galenikum und Reinalkaloidmischung bei der Tinktur meist kleiner war als beim Extrakt.

Dieses abweichende Verhalten der Tinktur gegenüber dem Extrakt macht es verständlich, daß beispielsweise in den Froschversuchen, die einen relativ großen Streubereich aufwiesen, der Wirkungsunterschied zwischen Galenikum und Reinalkaloidgemisch beim Extrakt noch faßbar, bei der Tinktur aber nicht mehr faßbar war; er ging hier in den Streuungen der Resultate unter.

Als Grund für die gefundenen Wirkungsunterschiede kommen wohl nur die in den galenischen Brechnußpräparaten enthaltenen Begleitstoffe in Frage; denn Abweichungen, die durch das unterschiedliche Mengenverhältnis Strychnin : Brucin bei Extractum und Tinctura Strychni möglich gewesen wären, wurden ja a priori dadurch eliminiert, daß jede Modelllösung denselben Strychnin- und Brucingehalt hatte wie die mit ihr verglichene Galenikumlösung.

Von den Begleitstoffen wurden die in Samen Strychni bzw. in den daraus bereiteten Galenika hauptsächlich gefundenen Verbindungen Loganin und Chlorogensäure auf ihre diesbezügliche Rolle geprüft. Loganin hatte weder allein noch in Kombination mit Strychnin irgendeine nennenswerte Wirkung. Auch Chlorogensäure konnte nicht für den Wirkungsunterschied verantwortlich gemacht werden, obwohl sie Eigenwirkung zeigte. Am Kaninchendünndarm war die Eigenwirkung der Chlorogensäure derjenigen des Strychnins entgegengesetzt gerichtet, hätte also nur eine Wirkungsabschwächung des Galenikums gegenüber der Reinalkaloidmischung zu erklären vermocht. Am Kaninchendickdarm wirkte Chlorogensäure ebenfalls dem Strychnin antagonistisch, und das erst in weit höheren Konzentrationen als sie tatsächlich in den angewandten Galenika-Lösungen vorlagen. -

Es scheiden danach für die Erklärung der (an den Darmpräparaten gefundenen) Wirkungsunterschiede zwischen den geprüften Brechnuß-Galenika und Brechnuß-Reinalkaloiden die Begleitstoffe Loganin und Chlorogensäure aus.

Von den übrigen Begleitstoffen muß - nach ihrem mengenmäßigen Vorkommen - vor allem der Gruppe der nichtflüchtigen Verbindungen (die allerdings Chlorogensäure und Loganin mit einschließt) und der Gruppe der N-haltigen Stoffe Beachtung geschenkt werden. - Beide Stoffgruppen überschneiden sich zum Teil (vgl. Tab. 13). - Daß grundsätzlich N-haltige Begleitstoffe in ähnlicher Versuchsanordnung zur Wirkungssteigerung von Stoffen mit spezifischer pharmakologischer Wirkung führen können, hat INOKUTI (207) am Beispiel der Beeinflussung des Adrenalins durch Aminosäuren gezeigt. Es ist deshalb durchaus möglich, vielleicht sogar wahrscheinlich, daß gerade die N-haltigen Begleitstoffe auch im vorliegenden Fall den Grund für den aufgefundenen Wirkungsunterschied zwischen den galenischen Zubereitungen und den Reinalkaloiden aus Samen Strychni darstellen.

Die Tatsache, daß ein prinzipieller Wirkungsunterschied zwischen Extractum und Tinctura Strychni nach den pharmakologischen Versuchsergebnissen der vorliegenden Arbeit nicht besteht, findet ihre Parallele in den Resultaten der chemischen Analyse. Danach zeigte sich auch in der Zusammensetzung von Extrakt und Tinktur kein wesentlicher Unterschied: Fast ausnahmslos sind in beiden Galenika dieselben Begleitstoffe enthalten.

Die weiterhin betonte Tatsache, daß, soweit pharmakologische Wirkungsunterschiede zwischen Extractum und Tinctura Strychni faßbar wurden, diese quantitativer Natur waren (der Extrakt wies größere Abweichungen von der Reinalkaloidmischung auf als die Tinktur), steht ebenfalls in Übereinstimmung mit dem Ergebnis der chemischen bzw. physikalisch-chemischen Analyse: Fast alle Begleitstoffe, vor allem die Gruppe der N-haltigen und die Gruppe der nichtflüchtigen Begleitstoffe, sind im Extrakt in größerer Menge enthalten als in der Tinktur.

Die Frage, auf welche Weise die vermutlich verantwortlichen stick-

stoffhaltigen, nichtalkaloidischen Begleitstoffe zu den beobachteten Wirkungsunterschieden führen, konnte in dieser Arbeit nicht beantwortet werden. Es wird weiterer Versuche bedürfen, um zunächst zu einer grundsätzlichen Entscheidung darüber zu kommen, ob es sich dabei um echte Synergismen zwischen den Alkaloiden und den Begleitstoffen handelt, oder ob ein anderer physiko-chemischer Zustand, in dem die Stoffe in den Galenika gegenüber entsprechenden Modellgemischen vorliegen, die besondere Art der aufgefundenen Galenika-Wirkungen bedingt.

Zusammenfassung

1. Es wurde untersucht, ob ein Wirkungsunterschied zwischen den galenischen Brechnußzubereitungen Extractum bzw. Tinctura Strychni DAB.6 und Reinalkaloidmischungen von Strychnin und Brucin besteht, wenn Lösungen der Galenika mit Alkaloid-Modelllösungen verglichen werden, deren Strychnin- und Brucingehalt demjenigen der Extrakt- bzw. Tinkturlösung gleich ist.

2. Zu diesem Zweck mußten zunächst *Extractum Strychni* und *Tinctura Strychni* möglichst genau auf ihren Gehalt an Strychnin und Brucin sowie auf ihren Gehalt an Begleitstoffen *analysiert* werden.

Der Gesamtalkaloidgehalt (Strychnin + Brucin) in *Extractum* und *Tinctura Strychni* wurde nach der Methode des DAB.6 sowie nach den adsorptionschromatographischen Bestimmungsmethoden von KUNTZE u. HÄDICKE und von GRAF ermittelt. Die quantitative Bestimmung der Einzelalkaloide Strychnin und Brucin erfolgte nach der Ph. Dan. 1948, nach der verteilungschromatographischen Methode von BRISEID JENSEN u. BAERHEIM SVENDSEN sowie nach der spektrophotometrischen Methode von JENTZSCH. Es ergab sich übereinstimmend, daß das Verhältnis Strychnin : Brucin im Extrakt etwa 46 : 54, in der Tinktur aber umgekehrt 54 : 46 betrug.

An Begleitstoffen wurden in beiden Galenika aufgefunden: Chlorogensäure, Loganin bzw. Loganinsäure, N-haltige Verbindungen (u.a. Aminosäuren bzw. Amine), ferner mehrere neben Chlorogensäure im UV-Licht fluoreszierende Stoffe und schließlich die nicht identifizierten Bestandteile des Trockenrückstandes als gesonderte Gruppe der nichtflüchtigen Begleitstoffe. Zur Ermittlung dieser Inhaltsstoffe, die nach Möglichkeit auch quantitativ erfolgte, diente vor allem die Papierchromatographie; daneben kamen die gravimetrische Analyse und ein modifiziertes Kjeldahl-Verfahren zur Anwendung. - Ein markanter qualitativer Unterschied in der Zusammensetzung von *Extractum* und *Tinctura Strychni* bestand also nicht; die Galenika differierten hauptsächlich in bezug auf das mengenmäßige Vorkommen der Begleitstoffe untereinander.

3. Der pharmakologische Vergleich der Brechnußzubereitungen mit den entsprechenden Alkaloidmischungen wurde an drei Testobjekten durchgeführt: am isolierten Kaninchendünndarm nach MAGNUS, am isolierten Kaninchendickdarm nach MAGNUS und am Ganzfrosch. Als Maßstab der Wirkung konnte beim Dünndarm die tonussenkende, beim Dickdarm die tonussteigernde und beim Frosch die krampferzeugende Wirkung benutzt werden. Die Wirkungsunterschiede zwischen den beiden Galenika und ihren entsprechenden Reinalkaloid-Modellmischungen konnten durch quantitative Auswertung der Dosis-Wirkungs-Beziehungen, der Dosis-Zeit-Beziehungen und schließlich der Temperaturabhängigkeit der pharmakologischen Reaktionen erfaßt werden.

4. Extractum Strychni DAB.6 zeigte bei 38°C am Kaninchendünndarm eine wesentlich stärkere, am Kaninchendickdarm eine etwa schwächere und bei 22°C am Ganzfrosch eine kaum unterschiedliche Intensität der Wirkung gegenüber seiner Alkaloid-Modellmischung. Die Zeiten (Latenz- bzw. Reaktionszeiten), die am Frosch zum Tetanus und am Kaninchendickdarm zum maximalen Tonusanstieg führten, waren beim Extrakt länger als bei den Reinalkaloiden. Temperaturerniedrigung auf 28° bzw. 16°C steigerte die Wirkungsintensität des Galenikums am Kaninchendünndarm bzw. am Ganzfrosch weniger als die des Alkaloidgemisches, am Kaninchendickdarm aber mehr. Die Zeiten wurden durch Temperaturerniedrigung in den Froschversuchen ziemlich unterschiedslos für das Galenikum und für die Reinalkaloidmischung verlängert; am Kaninchendickdarm dagegen war ihre Verlängerung durch Temperatursenkung beim Galenikum viel geringer als beim Alkaloidgemisch.

5. Tinctura Strychni DAB.6 zeigte in fast allen Versuchsanordnungen, die geprüft werden konnten, gegenüber ihrer Alkaloid-Modellmischung einen ähnlichen Wirkungsunterschied wie der Extrakt; das gilt für die Dosis-Wirkungs-Beziehungen, für die Dosis-Zeit-Beziehungen und für die Temperaturabhängigkeit. Nur das Ausmaß des Wirkungsunterschiedes zwischen Galenikum und Modellmischung war wesentlich kleiner als beim Extrakt. Es konnte wahrscheinlich gemacht werden, daß das gelegentliche Ausbleiben einer experimentell nachweisbaren Wirkungsdifferenz mit dieser geringfügigeren Abweichung zusammenhängt.

6. Die Prüfung der Wirkungsbeziehungen von Strychnin zu Brucin an den Darmpräparaten ergab: Bei 38°C ist bezüglich der tonus-senkenden Wirkung am Kaninchendünndarm Strychnin dem Brucin etwas, bezüglich der tonussteigernden Wirkung am Kaninchendickdarm erheblich überlegen. Die Reaktionszeiten des Strychnins bei 38°C am Dickdarm unterscheiden sich nur unwesentlich von denen des Brucins. Temperaturerniedrigung auf 28°C verstärkt die Wirkungsintensität von Strychnin und Brucin am Dünndarm in ähnlicher Weise. Dagegen wirkt sich am Dickdarm die Temperatursenkung auf die Intensität des Strychnins im Sinne einer Verstärkung, auf die des Brucins aber im Sinne einer Abschwächung aus. Die Reaktionszeiten werden durch Temperaturerniedrigung auf 28°C für beide Alkaloide in ähnlicher Weise verlängert.

Als Grund für den Wirkungsunterschied zwischen den beiden Galenika und ihren Alkaloid-Modellmischungen kommen die Unterschiede zwischen Strychnin- und Brucinwirkung nicht in Frage, weil durch die getroffene Versuchsanordnung eine Auswirkung der verschiedenen Alkaloidzusammensetzung eliminiert war.

7. Von den für den Wirkungsunterschied vermutlich verantwortlichen Begleitstoffen wurden Loganin und Chlorogensäure am Kaninchendünndarm und -dickdarm einer besonderen Prüfung unterzogen. Loganin erwies sich - allein und in Kombination mit Strychnin - an beiden Testobjekten bis zu einer Endkonzentration von 10^{-2} g/ml als fast völlig unwirksam. Chlorogensäure besaß zwar am Dünndarm und Dickdarm Eigenwirkung, der hierfür nötige Konzentrationsbereich lag aber höher als derjenige, in dem die Chlorogensäure in den Galenika-Lösungen enthalten war. Außerdem war an beiden Testobjekten das Vorzeichen der Chlorogensäurewirkung gerade umgekehrt wie das der Strychninwirkung. - Loganin und Chlorogensäure scheiden deshalb wohl für eine Erklärung der beobachteten Wirkungssteigerungen der Galenika gegenüber ihren Alkaloid-Modellmischungen aus.

Bezogen auf das mengenmäßige Vorkommen in den Brechnußpräparaten, mußte danach das Hauptaugenmerk auf die N-haltige, nichtalkaloidische Stoffgruppe fallen. Ihre Bedeutung für das Zustandekommen des Wirkungsunterschiedes konnte nur per exclusionem erschlossen werden.

8. Durch die vorliegende Arbeit wurde der erste experimentelle pharmakologische Beweis für einen Wirkungsunterschied zwischen den galenischen Zubereitungen und den Reinalkaloiden aus Semen Strychni erbracht.

Das Ergebnis der pharmakologischen Untersuchungen steht in guter Übereinstimmung mit dem Ergebnis der chemischen Analyse. Beide weisen auf die Bedeutung der stickstoffhaltigen, nichtalkaloidischen Begleitstoffe als Grund für den Wirkungsunterschied hin. Eine Erklärung für die Art und Weise des Zustandekommens dieses Wirkungsunterschiedes konnte noch nicht gegeben werden.

Literaturverzeichnis

A. Pharmakopöen

(Die verzeichneten Arzneibuchausgaben sind im Text erwähnt; in einigen Fällen besitzen sie keine offizielle Gültigkeit mehr.)

Originaltitel	Abkürzung
Deutsches Arzneibuch, 6. Ausgabe, 1926	DAB.6
Österreichisches Arzneibuch, 9. Ausgabe, 1960	ÖAB.9
Pharmacopoea Helvetica, 5. Ausgabe, 1933	Ph. Helv. V
Pharmacopoea Danica, 9. Ausgabe, 1948	Ph. Dan. 1948
Codex Medicamentarius Gallicus, 6. Ausgabe, 1937	Cod. Gall. VI
(The) British Pharmacopoeia, 8. Ausgabe, 1953 9. Ausgabe, 1958	B.P. 1958
The Pharmacopeia of the United States of America (The United States Pharmacopeia), 11. Ausgabe, 1936 12. Ausgabe, 1942	U.S.P. XII
The National Formulary (USA), 11. Ausgabe, 1960	N.F. XI
Pharmacopoea Internationalis, 1. Ausgabe, Band 1, 1951 Band 2, 1955	Ph. Internat. I
Homöopathisches Arzneibuch, 2. Auflage, Schwabe, Leipzig 1934	HAB.2

B. Autoren

(Die Titel der genannten Zeitschriften wurden - bis auf wenige Ausnahmen - nach dem Verzeichnis "Periodica Chimica", Akademie-Verlag, Berlin 1952 u. 1962, Nachtrag, abgekürzt. Literaturstellen, die auf die Originalschrift verweisen, sind in Klammern () gesetzt. - C. = "Chemisches Zentralblatt")

1. Wojahn, H. Kurze Einführung in die galenische Pharmazie; Steinkopff, Dresden u. Leipzig 1938, S. 1-3, 58
2. Eichler, O. Fortsch. Therap. Vollmer, H. 15, 253, 316, 378 (1939)
3. v.Czetsch-Lindenwald Pflanzliche Arzneizubereitungen, 2. Aufl., Süddtsch. Apotheker-Ztg., Stuttgart 1945, S. 12 - 33
4. Seel, H. Pharmazie 3, 356 (1948)
5. Büchi, J. Arch.Pharmaz. Ber.dtsch.pharmaz.Ges. 285/57, 40, 98, 150, 202 (1952)
6. Rosenthaler, L. Chem.Rdsch.(Solothurn) 5, 165 (1952)
7. Thoms, H. Ber.dtsch.pharmaz.Ges. 13, 240 (1903)
8. Liebreich, O. ebenda 13, 250 (1903)
9. Laubender, W. H. Ballmaier, Dissertation, Ballmaier, H. Frankfurt (Main) 1960
10. Langley, J. N. J. Physiology 33, 34 (1905/06) Magnus, R.
11. Inokuti, T. Mitt. med. Akad. Kioto 26, 989 (jap.), 1054 (dtsh.) (1939)
12. Jaminet, F. J.Pharmac.Belgique 8, 361, 348 (1953)
13. Tschirch, A. Handbuch der Pharmakognosie, Bd. 3, Tauchnitz, Leipzig 1923, 1.Abt., S. 448
14. Wehmer, C. Die Pflanzeninhaltsstoffe, Bd. 2, Fischer, Jena 1931, S. 961
15. Karsten, G. Lehrbuch der Pharmakognosie, 9. Aufl., Weber, U. Fischer, Stuttgart 1962, S. 489 Stahl, E.
16. Moritz, O. Einführung in die allgemeine Pharmakognosie, 3. Aufl., Fischer, Stuttgart 1962, S. 341

17. Pelletier, J. Ann. Chimie Physique 8, 323 (1818);
Caventou, J. B. 10, 142 (1819) - (Lit.-Stelle 14)
18. Robinson, R. Experientia (Basel) 2, 28 (1946) -
 (C.A. 40, 6084; 1946)
19. Robertson, J. H. Acta crystallogr. (London)
Beevers, C. A. 4, 270 (1951) - (C. 1952, 5549)
20. Bokhoven, C. ebenda 4, 275 (1951) - (C. 1952,
Schoone, J. C. 5549)
Bijvoet, J. M.
21. Woodward, R. B. J. Americ. chem. Soc.
Cava, M. P. 76, 4749 (1954) - (C. 1955, 107)
Ollis, W. D.
Hunger, A.
Daeniker, H. U.
Schenker, K.
22. Woodward, R. B. Experientia (Basel), Suppl. II
 213 (1955) - (C. 1955, 107)
23. Peerdeman, A. F. Acta crystallogr. (Copenhagen)
 9, 824 (1956) - (C. 1958, 969)
24. Pelletier, J. Ann. Chimie Physique
Caventou, J. B. 12, 113 (1819) - (Lit.-Stelle 14)
25. Hendrickson, J. B. in R. H. F. Manske, The Alkaloids VI;
 Academic Press, New York - London
 1960, S. 180
26. Boit, H.-G. Ergebnisse der Alkaloid-Chemie bis
 1960; Akademie-Verlag, Berlin 1961,
 S. 603, 611, 612, 617
27. Warnat, K. Helv. chim. Acta 14, 997 (1931) -
 (Manske - Holmes, The Alkaloids I,
 Academic Press, New York 1950)
28. Gmelin, E. nach H. Wieland u. G. Oertel,
 Liebigs Ann. Chem. 469, 193 (1929)
29. Martin, W. F. J. chem. Soc. (London) 3603 (1952)
Bentley, H. R.
Henry, J. A.
Spring, F. S.
30. Schindler, H. Arzneimittel-Forsch. 5, 299 (1955)
31. Büchi, J. Pharmac. Acta Helvetiae
Reller, A. 22, 387 (1947)
32. Jentzsch, K. Pharmaz. Zhalle 95, 270 (1956)

33. Karrer, W. Konstitution und Vorkommen der org. Pflanzenstoffe; Birkhäuser, Basel - Stuttgart 1958, S. 395
34. Merz, K. W. H. Lehmann, Dissertation, Freiburg i. Br. 1957; Lehmann, H. Arch. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges. 290/62, 543 (1957)
35. Karrer, P. Lehrbuch der organischen Chemie, 13. Aufl., Thieme, Stuttgart 1959, S. 577
36. Klages, F. Einführung in die organische Chemie; de Gruyter, Berlin 1961, S. 467
37. Kochmann, M. Med. Welt 8, 577 (1934)
38. Schübel, K. Med. Welt 12, 1642 (1938)
39. Fiedler, U. Arzneimittel-Forsch. 4, 426 (1954) Hildebrand, G.
40. Diaz Biasco, R. Rev. farmacéutica (B. Aires) 101, 105 (1959) Di Menza, A. (Z. analyt. Chem. 177, 200; 1960) Pizzorno, L. N.
41. Pridham, J. B. J. Chromatogr. (Amsterdam) 2, 605 (1959) (Z. analyt. Chem. 177, 371; 1960)
42. Gorter, K. Arch. Pharmaz. 247, 184, 197 (1909)
43. Tunmann, O. Pharmaz. Post 51, 341 (C. 1918 II, 401)
44. Baerheim Svendsen, A. Pharmac. Acta Helvetiae 26, 253 (1951)
45. Dunstan, W. R. J. chem. Soc. (London) 1409 (1884) Short, F. W. (Lit.-Stelle 14) Pharmac. J. Trans. 14, 1025 (1884) (Arch. Pharmaz. 222, 824; 1884)
46. Bridel, M. J. Pharmac. Chim. 4, 49 (1911)
47. Rosenthaler, L. Schweiz. Apotheker-Ztg. 61, 398 (1923) - (C. 1923 III, 932) Pharmaz. Ztg. 103, 816 (1958)
48. Merz, K. W. K. G. Krebs, Dissertation, Königsberg 1937; Krebs, K. G. Arch. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges. 275/47, 217 (1937)
49. Krebs, K. G. Pharmaz. Ztg. 103, 1004 (1958)

50. Andrews, P. J. chem. Soc. (London) 806 (1954)
Hough, L.
Jones, J. K. N.
51. Jaminet, F. J. Pharmac. Belgique 8, 346 (1953)
52. v.Czetsch-Lindenwald Lit.-Stelle 3, S. 229
53. Meyer, W. Dtsch. Apotheker-Ztg. 54, 913 (1939)
54. Kern, W. Angewandte Pharmazie, 3. Aufl., Wiss. Verlagsges., Stuttgart 1951, S. 53 - 64
55. Gstirner, F. Mitt. dtsch. pharmaz. Ges. 29, 18, 37 (1959)
56. Wojahn, H. Lit.-Stelle 1, S. 67, 80
57. Šaršúnová, M. Pharmaz. Zhalle 101, 325 (1962)
Menkynová, J.
Fellegi, J.
58. Fischer, R. ebenda 97, 104 (1958)
Gharbo, S.
59. Hörhammer, L. Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. 288/60, 377, 387 (1955)
Leue, K. W.
60. Kedvessy, G. Mitt. dtsch. pharmaz. Ges. 29, 1 (1959)
Rácz, I. (S.)
61. Schindler, H. Vorschläge für das neue Deutsche Homöopathische Arzneibuch, Heft 6, Selbstverlag Landesapothekerkammer Baden-Württemberg 1960, S. 339
62. Kunz-Krause, H. Pharmaz. Zhalle 76, 173 (1935)
63. Trabert, H. Pharmazie 9, 373 (1954)
64. Rojahn, C. A. H. Herzog, Diss., Halle a. S. 1929; Pharmaz. Zhalle 72, 401 (1932)
Herzog, H.
65. Biel, W. Dtsch. Apotheker-Ztg. 51, 1123 (1936)
66. Bari, S. Pharmaz. Ztg. 80, 852, 880, 1265 (1935)
67. Schneider, W. Apotheker-Ztg. 48, 655 (1933)
68. Dieckmann, H. Pharmaz. Ind. 16, 4 (1954)
69. Kern, W. Lit.-Stelle 54, S. 136 - 180
70. Lang, W. Dtsch. Apotheker-Ztg. 91, 125 (1951)
71. Steiner, I. Pharmac. Acta Helvetiae 26, 107 (1951)

72. Lüdde, K. H. Pharmazie 10, 320 (1955)
73. Paris, R. A. Ann. pharmac. franç. 13, 424 (1955)
Viejo, J. P.
74. Paris, R. A. J. Pharmac. Belgique 11, 9 (1956) -
(C.A. 50, 17325; 1956)
75. Saint-Blanchard, J. Dissertation, Lyon 1959
(Lit.-Stelle 61, Heft 5, 1959, S.228)
76. Mirimanoff, A. A. Hakim, Dissertation Genf 1951;
Hakim, A. Arch. des Sci. 4, 335 (1951)
77. Büchi, J. H. Schumacher, Dissertation, ETH
Schumacher, H. Zürich 1956; Pharmac. Acta Helvetiae
32, 375 (1957)
78. Dušínský, G. Nature (London) 181, 1335 (1958)
Tyllová, M.
79. Reichelt, J. Pharmazie 13, 21 (1958);
Šaršúnová, M. Pharmac. Weekbl. 23, 159 (1958)
80. Šaršúnová, M. Pharmac. Acta Helvetiae
Tölgyessy, J. 35, 271 (1960)
Majer, J.
81. Jaminet, F. J.Pharmac.Belgique 8, 449,452 (1953)
82. Stahl, E. Dünnschicht-Chromatographie;
Springer, Berlin 1962, S. 300, 337;
Arch.Pharmac. Ber.dtsch.pharmac.Ges.
292/64, 411 (1959)
83. Gatirner, F. Pharmac. Ztg. 108, 440 (1963)
Manns, G.
84. Karmazín, M. Pharmac. Zhalle 95, 10 (1956)
Böswart, J.
85. Lee Kum-Tatt Nature (London) 188, 65 (1960)
86. Graf, E. Dtsch. Apotheker-Ztg. 91, 797 (1951)
87. Scott, M. J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit.
Taub, A. 45, 232 (1956)
Piantadosi, C.
88. Elvidge, D. A. J. Pharmacy Pharmacol. 9, 974 (1957)
Proctor, K. A.
89. Taylor, I. S. J. Pharmacy Pharmacol. 11, 191 (1959)
Ifrim, A.
90. Brochmann-Hanssen, E. J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit.
45, 74 (1956)

91. Kamp, W. Pharmac. Weekbl. 92, 6 (1957) -
(Z. analyt. Chem. 158, 141; 1957)
92. Kamp, W. Pharmac. Weekbl. 96, 179 (1961) -
Post, C. P. C. (Z. analyt. Chem. 186, 466; 1962)
93. Zuman, P. Pharmazie 11, 449 (1956)
94. Bardhan, D. K. J. Pharmacy Pharmacol. 13, 504 (1961)
Chakravarty, D.
95. Briseid Jensen, K. Pharmac. Acta Helvetiae
Baerheim Svendsen, A. 25, 31 (1950)
96. Bräuniger, H. Pharmazie 10, 591 (1955)
Borgwardt, G.
97. Waksmundzki, A. Acta polon. pharmac. 15, 279 (1958)
Soszewiński, E. (C. 1959, 15771)
98. Zarnack, J. Pharmazie 15, 410 (1960)
Pfeifer, S.
99. Kakáč, B. Handbuch der Kolorimetrie, Band 1:
Vejdělek, Z. J. Kolorimetrie in der Pharmazie;
Fischer, Jena 1962, S. 277, 287
100. Kuntze, M. Pharmaz. Zhalle 98, 444 (1959)
Hädicke, M.
101. Schindler, H. Lit.-Stelle 61, S. 285 f.
102. Gstirner, F. Einführung in die Arzneibereitung;
Wiss. Verlagsges., Stuttgart 1949,
S. 247
103. Jentzsch, K. Scienta pharmac. 19, 219 (1951)
104. Schultz, O.-E. Arzneimittel-Forsch. 5, 342 (1955)
Strauss, D.
105. Gore, D. N. J. Pharmacy Pharmacol. 4, 803 (1952)
Adshead, J. M.
106. Fiedler, U. Arzneimittel-Forsch. 4, 41 (1954)
107. Cramer, F. Papierchromatographie, 2. Aufl.,
Verlag Chemie, Weinheim/Bergstr. 1953
108. Hais, I. M. Handbuch der Papierchromatographie,
Macek, K. Band 1: Grundlagen und Technik;
Fischer, Jena 1958
109. Merck, E. Chromatographie unter besonderer Be-
(Firmenschrift) rücksichtigung der Papierchromato-
graphie, E. Merck AG, Darmstadt 1958

110. Merck, E.
(Firmenschrift) Anfärbereagenzien für die Papier-
chromatographie, E. Merck AG, Darm-
stadt (auch in Schrift 109 enthalten)
111. Hörhammer, L.
Müller, K. H. Arch.Pharmaz. Ber.dtsch.pharmaz.Ges.
287/59, 310 (1954)
112. Hörhammer, L.
Hänsel, R. ebenda 286/58, 425 (1953)
113. Krebs, K. G.
Matern, J. J. Matern, Diss., Tübingen 1957;
Pharmaz. Ztg. 103, 562 (1958)
114. Berry, H. K.
Sutton, H. E. Univ. of Texas Publ. 5109 (1951) -
Cain, L. (Lit.-Stelle 107, S. 59)
Berry, J. S.
115. Decker, P.
Riffart, W. Chemiker-Ztg. 74, 261 (1950) -
(Lit.-Stelle 107, S. 59)
116. Kolthoff, I. M.
Stenger, V. A. Volumetric Analysis, 2. Aufl.,
Interscience Publ., New York 1947
117. Eder, R.
Ruckstuhl, O. Pharmac. Acta Helvetiae
19, 23 (1944)
118. Samdahl, B.
Hadler Vihovde, E. Medd. norsk farmac. Selsk.
20, 167 (1958) - (C. 1959, 15444)
119. Woelm, M.
(Firmenschrift) Woelm-Mitteilungen AL 7 : Chromato-
graphie mit Aluminiumoxyden "WOELM",
M. Woelm, Eschwege 1958, S. 11
120. Küster, F. W.
Thiel, A. Logarithmische Rechentafeln, 84.-93.
Fischbeck, K. Aufl., de Gruyter, Berlin 1962
121. Merz, K. W.
Franck, R. Arch.Pharmaz. Ber.dtsch.pharmaz.Ges.
275/47, 345 (1937)
122. Mayer, F. X.
Luszczak, A. Absorptions-Spektralanalyse;
de Gruyter, Berlin 1951, S. 42
123. Mayer, F. X.
Halawa, M. Wiener klin. Wschr. 52, 495 (1939)
124. Paech, K.
Tracy, M. V. Moderne Methoden der Pflanzenanalyse,
Band 4, Springer, Berlin 1955, S. 25
125. Friedrich, A. Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.
216, 68 (1933)
126. Meyer, H. H.
Gottlieb, R. "Die experimentelle Pharmakologie
Pick, E. P. als Grundlage der Arzneibehandlung",
8. Aufl., Urban & Schwarzenberg,
Berlin - Wien 1933, S. 43

127. Gebhardt, H. Grundriß der Pharmakologie, Toxi-
kologie und Arznei-Verordnungslehre;
15. Aufl., Müller & Steinicke,
München 1951, S. 187
128. Poulsson, E. "Die Strychningruppe", in A. Heffter:
Handbuch der experimentellen Pharma-
kologie, Bd. 2, Springer, Berlin 1920,
S. 322 - 391
129. v. Rautenfeld, P. Dissertation, Dorpat 1884; Pharmaz.
Z. Russ. 765 (1884); (R. Kobert:
Lehrbuch der Intoxikationen, Bd. 2,
Enke, Stuttgart 1906, S. 1162)
130. Santesson, C. G. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp.
Pathol. Pharmakol. 35, 57 (1895);
Scand. Arch. Physiol. 6, 308 (1895)
131. Lewin, L. "Gifte und Vergiftungen", Lehrbuch
der Toxikologie, 5. Ausg., Haug, Ulm
1928 (unveränderte Ausg. 1962), S. 789
132. Bochefontaine, M. Arch. Physiol. norm. pathol. (Paris)
5, 664 (1873)
133. Schütz, E. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp.
Pathol. Pharmakol. 21, 341 (1886)
134. Doyon, M. Arch. Physiol. norm. pathol. (Paris)
(5) 6, 887 (1894); 7, 374 (1895)
135. Polák, B. Zprávy České Akademie 19 II, 3 (1910) -
(Biochem. Zbl. 10, 199; 1910)
136. Pellacani, P. Arch. italiennes Biol. 2, 302 (1882)
(Lit.-Stelle 128, S. 363)
137. Hanč, A. Pflügers Arch. ges. Physiol.
73, 453 (1898)
138. Waddell, J. A. J. Pharmacol. exp. Therapeut.
2, 279 (1917) - (C. 1919 III, 929)
139. Gessner, O. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp.
Pathol. Pharmakol. 167, 244 (1932)
140. Schlesinger, W. Wiener med. Jb. 74, 1 (1878)
141. Röhrig, A. Virchow's Arch. pathol. Anatom.
Physiol. klin. Med. 76, 1 (1879)
142. Kehrer, E. Arch. Gynäkol. 81, 160 (1907)
143. Yonkman, F. F. J. Pharmacol. exp. Therapeut.
37, 339 (1929) - (C. 1930 I, 1966)

144. Gruber, C. M. J. Pharmacol. exp. Therapeut.
Bryan, W. T. K. 45, 299 (1932) - (C. 1933 I, 3965)
Richardson, L. K.
145. Inokuti, T. Mitt. med. Akad. Kioto
26, 910 (jap.), 1048 (dtsh.) (1939)
(C.A. 35, 1862; 1941)
146. Liljestrand, G. Pflügers Arch. ges. Physiol. 175,
111 (1919) - (C. 1919 III, 445)
147. Hauschild, F. Pharmakologie und Grundlagen der
Toxikologie; Thieme, Leipzig 1956,
S. 893
148. Morrison, R. W. J. Americ. pharmac. Assoc. 21, 648,
Bliss Jr., A. R. 753 (1932) - (C. 1933 I, 258)
149. Rothmaler, O. Dissertation, Kiel 1893 -
(Lit.-Stelle 128, S. 389)
150. Reichert, E. T. Med. News 72, 369 (1893) -
(Therap. Mh. 7, 564; 1893)
151. Mays, T. J. J. Physiology 8, 391 (1887)
152. Goris, A. zit. nach R. Wasicky: Physiopharma-
Lachaise kognosie; Fromme, Wien 1932, S. 104
153. Ruickoldt, E. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp.
Pathol. Pharmakol. 149, 370 (1930)
154. Schübel, K. ebenda 190, 199 (1938)
155. Griebel, C. Pharmaz. Ztg. 88, 938 (1952)
156. Herrmann, K. Pharmazie 11, 433 (1956)
157. Seel, H. Med. Welt 9, 1422 (1935); Planta
med. (Stuttgart) 2, 73 (1954)
158. Gebhardt, H. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp.
Pathol. Pharmakol. 190, 201 (1938);
191, 696 (1939)
159. Komant, W. ebenda 163, 633 (1932)
160. Czok, G. Arzneimittel-Forsch. 11, 545 (1961)
Lang, K.
161. Triendl, E. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp.
Pathol. Pharmakol. 192, 53 (1939)
162. Clark, W. G. J. Pharmacol. exp. Therapeut.
Geissman, T. A. 92, 362 (1949) - (C.A. 43, 5116; 1949)

163. Credner, K. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Pathol. Pharmacol. 202, 155 (1943)
Schumrick, W.
164. Fukuda, T. ebenda 164, 685 (1932)
165. Czok, G. Arzneimittel-Forsch. 12, 1195 (1962)
Lang, K.
Kieckebusch, W.
166. Ecker, A. Anatomie des Frosches, 3. Aufl.,
Wiedersheim, R. Abt. 1, Vieweg, Braunschweig 1896,
Gaupp, E. W. T. S. 5 - 12
167. Hempelmann, F. "Der Frosch", Monographien einheimi-
scher Tiere, Bd. 1, Klinkhardt,
Leipzig 1908, S. 177 - 182
168. Kopsch, F. "Die Entwicklung des braunen Gras-
frosches Rana fusca Roese", Thieme,
Stuttgart 1952, S. 1 - 9
169. Wright, A. H. Handbook of Frogs and Toads of the
Wright, A. A. United States and Canada, 3. Aufl.,
Comstock, Ithaca - New York 1949,
S. 481 - 483
170. Weiss, S. J. Pharmacol. exp. Therapeut.
Hatcher, R. A. 19, 419 (1922)
171. Rugh, R. "The Frog. Its Reproduction and
Development." Blakiston, Phila-
delphia - Toronto 1951, S. 17 - 49
172. Fühner, H. Nachweis und Bestimmung von Giften
auf biologischem Wege; Urban &
Schwarzenberg, Berlin - Wien 1911,
S. 71 f.
173. Falck, F. A. Vjschr. gerichtl. Med. N. F.
20, 193 (1874)
174. Focke, C. ebenda 3. F. 37, 28 (1909)
175. Fuchs, R. F. Biol. Zbl. 26, 863 (1906)
176. Lovett, R. W. J. Physiology 2, 99 (1888)
177. Sollmann, T. H. A Laboratory Guide in Pharmacology,
1917, S. 335 (Lit.-Stelle 170)
178. Githens, T. S. J. exp. Medicine 18, 300 (1913)
179. Marchand, R. F. J. prakt. Chem. 33, 129 (1844);
37, 1 (1846)
180. Bidder, F. Arch. Anatom. Physiol. wiss. Med.
598 (1868)

181. Eckhard, C. Eckhards Beitr. Anatom. Physiol.
 9, 1 (1881)
182. Kulenkamp, T. Dissertation, Rostock 1891
183. Blass, S. Dissertation, Würzburg 1902
184. Fühner, H. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp.
 Breipohl, W. Pathol. Pharmakol. 173, 146 (1933)
185. Savage, R. M. The Ecology and Life History of the
 Common Frog (*Rana temporaria temp.*);
 Pitman & Sons, London 1961
186. Langendorff, O. Arch. Anatom. Physiol., Physiol.
 Abt., Suppl.-Bd. 269 (1886)
187. Falck, F. A. Vjschr. gerichtl. Med. N. F.
 41, 345 (1884)
188. Veit, F. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp.
 Pathol. Pharmakol. 178, 593 (1935)
189. Koll, W. ebenda 162, 320 (1931)
190. Blume, W. ebenda 149, 189 (1930)
191. Plum, K. ebenda 184, 133 (1937)
192. Magnus, R. Pflügers Arch. ges. Physiol.
 102, 123 (1904); 115, 320 (1906)
193. Trendelenburg, P. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp.
 Pathol. Pharmakol. 81, 55 (1917)
194. Arnold, J. W. Hygea (Karlsruhe) 14, 193 (1841) -
 (Lit.-Stellen 128 u. 170)
195. Pereira, J. zit. nach Ronas Ber. ges. Physiol.
 exp. Pharmakol. 156, 221 (1953)
196. Eichler, O. Arzneimittel-Forsch. 5, 635 (1955)
 Krebs, H.
197. Kuno, Y. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp.
 Pathol. Pharmakol. 77, 206 (1914)
198. Dinckler, K. Pharmaz. Zhalle 77, 281 (1936)
199. Gerhardt, U. "Das Kaninchen"; Klinkhardt,
 Leipzig 1909
200. Schauder, W. Anatomie der Impfsäugetiere (Kanin-
 chen, Meerschweinchen, Ratte, Maus);
 in P. Martin: Lehrbuch der Anatomie
 der Haustiere, Bd. 4, 2. Aufl.,
 Schickhardt & Ebner, Stuttgart 1922

Lebenslauf

Am 9. Januar 1931 wurde ich, Ulrich Kurt Paul Schmidt, in Danzig als Sohn des Kaufmanns Paul Schmidt und dessen Ehefrau Hildegard, geb. Wurst, geboren. In meiner Geburtsstadt wuchs ich auf und trat dort im Herbst 1941, nach viereinhalb-jähriger Grundschulzeit, in das Realgymnasium St. Johann ein. Durch die Kriegereignisse und ihre Folgen, durch die ich Vater und Heimat verlor, wurde ich bald zu mehrmaligem Schulwechsel gezwungen. So besuchte ich von April 1944 bis Januar 1945 die Herzog-Heinrich-Schule in Liegnitz in Schlesien, von Oktober 1945 bis Dezember 1946 die Oberschule in Calbe an der Saale und von Januar 1947 bis zur Reifeprüfung im Februar 1951 das Realgymnasium an der Oranienstraße in Wiesbaden.

Nach zwei Semestern Philologiestudium an der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität in Frankfurt am Main trat ich im April 1953 als Apothekerpraktikant in die Adler-Apotheke in Wiesbaden ein und legte dort im März 1955 die pharmazeutische Vorprüfung ab. Zum Sommersemester 1955 wurde ich an der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität zum Studium der Pharmazie zugelassen, das ich mit der pharmazeutischen Prüfung im März 1958 zunächst beendete. Anschließend arbeitete ich ein Jahr als Kandidat der Pharmazie in der Apotheke International in Frankfurt am Main und erhielt mit Wirkung vom 10. April 1959 die Approbation als Apotheker.

Zum Sommersemester 1959 immatrikulierte ich mich erneut an der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität und setzte meine naturwissenschaftlichen Studien fort. Im März 1960 begann ich auf Anregung von Herrn Prof. Dr. W. Laubender mit der Anfertigung meiner Dissertation. Die hierzu erforderlichen Untersuchungen führte ich zum Teil im Pharmazeutischen Institut unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. C. Rohmann und zum Teil in der Abteilung für Experimentelle Medizin unter der Anleitung von Herrn Professor Dr. W. Laubender durch. Vom 1.10.1959 bis zum 31.3.1963 war ich am Pharmazeutischen Institut als wissenschaftliche Hilfskraft tätig. Seit 1. April 1963 verwalte ich am selben Institut die Stelle eines wissenschaftlichen Assistenten.

Meinem hochverehrten Lehrer und Doktorvater, Herrn Professor Dr. med. W. Laubender, spreche ich für die Überlassung des Themas und besonders für die wirklich "väterliche" Betreuung, die er mir bei der Anfertigung meiner Dissertation in wissenschaftlicher und persönlicher Hinsicht zuteil werden ließ, meinen tiefen Dank aus.

Dem Direktor des Pharmazeutischen Instituts, meinem sehr verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. phil. C. Rohmann, danke ich aufrichtig für die ständige Förderung und die freundliche Unterstützung bei der Durchführung der vorliegenden Arbeit.

